



**Hélder Bertino Pinto
Machado**

**Suportes compósitos Poliuretano/HA para
aplicações ósseas de longo termo.**



**Hélder Bertino Pinto
Machado**

**Suportes compósitos Poliuretano/HA para
aplicações ósseas de longo termo.**

Dissertação apresentada à Universidade de Aveiro para cumprimento dos requisitos necessários à obtenção do grau de Mestre em Engenharia Biomédica, realizada sob a orientação científica do Dr. Rui Nunes Correia, Professor Associado do Departamento de Engenharia Cerâmica e do Vidro da Universidade de Aveiro.

o júri

Presidente

Prof.^a. Dr.^a Maria Helena Fernandes

professora associada do departamento de Engenharia Cerâmica e do Vidro da Universidade de Aveiro

Prof. Dr. Rui Nunes Correia

professor associado do departamento de Engenharia Cerâmica e do Vidro da Universidade de Aveiro

Prof. Dr. José António Covas

professor catedrático do departamento de Engenharia de Polímeros da Universidade do Minho

Prof. Dr. João Filipe Colardelle da Luz Mano

professor auxiliar do departamento de Engenharia de Polímeros da Universidade do Minho

agradecimentos

Jamais poderia deixar passar esta oportunidade para, de todo o coração, agradecer às pessoas que me ajudaram a superar esta fase, nem sempre com o melhor ânimo.

Aos meus pais, ao meu irmão, tios e avós, por todo o apoio nas alturas em que mais precisei, sempre contando com eles.

Ao Professor Rui Nunes Correia, pela pessoa incansável que foi nos devidos esclarecimentos e rigor científico, durante o acompanhamento deste trabalho.

Ao Professor José António Covas pelas facilidades concedidas no manuseamento de equipamento e esclarecimento dúvidas no âmbito dos estudos reológicos.

Ao Professor Simões pela ajuda dispensada, quando foram necessários conceitos de mecânica.

Aos colegas de trabalho pelos inesquecíveis momentos que passamos, por toda a ajuda e acolhimento desde o primeiro dia que entrei no laboratório de biomateriais.

Aos incansáveis amigos que protagonizaram a “troupe do almoço” cuja amizade e companheirismo ajudou a superar as etapas mais difíceis.

Ao pólo Aveiro Norte na pessoa do Professor Martinho pela disponibilidade demonstrada quando a necessidade da utilização de equipamentos.

Finalmente, gostaria de agradecer especialmente a essa pessoa que suportou os meus piores momentos, sempre presente. Pessoa que um dia jurou comigo viver, essa pessoa de coração puro, minha mulher, Célia.

palavras-chave

Poliuretano, compósitos, extrusão, substituição óssea, hidroxiapatite.

resumo

Com este trabalho, pretende-se fazer uma avaliação do uso de poliuretanos em aplicações biomédicas. A extensa diversificação de propriedades permite que se sintetizem materiais biodegradáveis ou bioestáveis. Os biodegradáveis podem ser bastante promissores, contudo existe uma grande controvérsia quanto à libertação de produtos eventualmente tóxicos no organismo, cinética da degradação e metabolização dos mesmos. Os Poliuretanos bioestáveis podem efectivamente estabelecer ligações com o meio (bioactividade), apresentam por si só boas propriedades mecânicas, permitindo a sua aplicação em locais de carga elevada (substituição óssea). Mesmo assim, pode existir algum grau de degradação passível de ser eliminado com a utilização de antioxidantes. As propriedades mecânicas poderão ser melhoradas substancialmente com a introdução de enchimentos cerâmicos, podendo obter-se um compósito de alta estabilidade química com propriedades mecânicas próximas das do osso.

O trabalho que se segue teve por objectivo produzir compósitos PU/HA obtidos por extrusão. Para tal foram sintetizados poliuretanos de base éster e éter, utilizando o método de pré-polímero, fazendo-se variar o tamanho de cadeia do poliál. Foi adicionado a um dos poli (éter-uretanos) um antioxidante (BHA), com o objectivo de se avaliar qual o seu efeito na protecção da degradação.

Para avaliar a resistência à degradação efectuaram-se testes de degradação acelerada em soluções de H_2O_2 e HNO_3 , tendo-se observado que os polímeros de base poliéter apresentaram maior resistência à degradação. Para além disso os poli (éster-uretanos) sofreram degradação mais acentuada em HNO_3 . Verificou-se ainda que, o antioxidante adicionado se difundia para o meio agressor.

Foram também efectuados estudos reológicos dos compósitos para se avaliar o efeito da química da matriz e enchimento na extrusão. Os resultados mostraram que o aumento do tamanho de cadeia dos polímeros resulta num aumento da viscosidade complexa. Foi demonstrado que os poli (éter-uretanos) oferecem maior resistência à extrusão que os poli (éster-uretanos). Até 50% (m/m) de enchimento observa-se um efeito lubrificante no compósito, acima deste teor geram-se viscosidades que comprometem a extrusão.

As características de resistência à degradação associadas à alta homogeneidade conferida pela extrusão apontam estes compósitos como materiais promissores para aplicações de longo termo em substituição do tecido ósseo.

keywords

Polyurethane, composite, extrusion, bone substitution, hydroxiapatite.

abstract

In this study, we intend to evaluate the use of polyurethanes in biomedical applications. Their extent of chemical properties allows the synthesis of biodegradable or biostable materials. Biodegradable materials can be very promising; however there is some controversy regarding the liberation of toxic products, degradation kinetics and elimination of those by the organism. Biostable Polyurethanes can effectively establish connections with the living tissue (bioactivity), and have mechanical properties ideal for applications in load bearing sites (bone substitution). Even so, it is possible that degradation occurs, eventually eliminated with the use of antioxidants. The mechanical properties can be improved substantially with the introduction of ceramic fillers, resulting in composites of high chemical stability and mechanical properties identical to human bone. This work has the objective of producing composites of PU/HA obtained by screw-extrusion. Polyurethanes, ester and ether based were synthesised, using the pre-polymer technique, and variable polyol chain lengths. It was added an antioxidant (BHA) to one of the poly (ether-urethanes), regarding the evaluation of the degradation protection given by this material. Materials were kept in accelerated degradation solutions of H_2O_2 and HNO_3 . It was found that polyether based polyurethanes, presented less degradation rates. Nevertheless, the poly (ester-urethanes) suffered degradation, more intense in HNO_3 solution than H_2O_2 . It was observed that the antioxidant added was diffused to the environment. There were also performed rheologic studies of the composites to evaluating the effect of the matrix chemistries and filler addition. The results showed that the increasing the size of polymers chain results in an increase of the complex viscosities. It was also shown that poly (ether-urethanes) has higher resistance to extrusion than poly (ester-urethanes). At 50% (m/m) of filler, it was observed a lubricant effect in the composites, above such contents it was generate viscosities that compromise extrusion. The characteristics of low degradation rates associated to the high homogeneity conferred by the extrusion, aim these composites as promising materials for long term applications in bone tissue substitution.

Introdução Geral.....	1
Capítulo 1	
Introdução.....	3
1.1. Biomateriais.....	3
1.2. Tecidos Ósseo.....	3
1.3. Biomateriais utilizados na substituição do tecido ósseo.....	5
1.3.1. Enxertos Ósseos.....	6
1.3.2. Materiais Sintéticos.....	7
1.3.2.1. Metálicos.....	7
1.3.2.2. Materiais Cerâmicos.....	8
1.3.2.3. Cimentos de fosfato de cálcio.....	11
1.3.2.4. Materiais Poliméricos.....	11
1.3.2.5. Poliuretanos.....	13
1.3.2.5.1. Química dos Poliuretanos.....	13
1.3.2.5.2. Poliuretanos como biomateriais.....	14
1.3.2.5.3. Importância da degradação de polímeros usados como biomateriais.....	15
1.3.2.5.4. Mecanismos de degradação.....	15
1.3.2.5.4.1. Hidrólise.....	16
1.3.2.5.4.2. Oxidação.....	16
1.3.2.5.5. Toxicidade dos produtos de degradação.....	17
1.3.3. Compósitos de Poliuretano para aplicações como biomateriais.....	18
1.3.4. Bioestabilidade de poliuretanos utilizados como biomateriais.....	19
1.3.5. Efeito do estado de deformação na bioestabilidade/biodegradação nos PEUU's.....	22
1.3.6. Modificação de superfície.....	22
1.4. Referências Bibliográficas.....	25
Capítulo 2	
Preparação e Caracterização de Compósitos Poliuretano/Hidroxiapatite	29
2.1. Introdução.....	29
2.1.1. Materiais Compósitos para Implantologia Óssea.....	29
2.1.2. Extrusão.....	30
2.2. Procedimento Experimental.....	32
2.2.1. Síntese dos Poliuretanos.....	34
2.2.2. Preparação de compósitos.....	37
2.3. Caracterização dos Poli (éster) e Poli (éter-uretanos).....	38
2.3.1. Microscopia electrónica de Varrimento (SEM).....	38
2.3.2. Microscopia de Força Atómica (AFM).....	38
2.3.3. Calorimetria Diferencial de Varrimento (DSC).....	38
2.3.4. Espectroscopia de Infravermelho com Reflectância Total Atenuada (ATR-FTIR).....	39
2.3.5. Reologia.....	39

2.4. Apresentação e Discussão de Resultados.....	39
2.4.1. Estudos de Espectroscopia de Infravermelho (ATR-FITR).....	39
2.4.1.1. Poli (éster-uretanos).....	39
2.4.1.2. Influência do tamanho de cadeia da PCL diol nos espectros de FTIR.....	42
2.4.1.3. Poli (éter-uretanos).....	43
2.4.1.4. Influência do tamanho de cadeia da PTMO nos espectros de FTIR.....	46
2.4.2. Estudo das propriedades térmicas dos polímeros por DSC.....	46
2.4.2.1. Introdução.....	46
2.4.3. Estudos de Microscopia de Força Atômica (AFM).....	50
2.4.3.1. Introdução.....	50
2.4.3.2. Procedimento Experimental.....	51
2.4.3.2.1. Preparação de discos por prensagem a quente.....	51
2.4.3.3. Poli (éster-uretanos).....	51
2.4.3.4. Poli (éter-uretanos).....	53
2.5. Referências Bibliográficas.....	55

Capítulo 3

Estudo da Degradação <i>in vitro</i> de Poliuretanos	57
3.1. Introdução.....	57
3.2. Comportamento dos poliuretanos em ambiente fisiológico.....	58
3.2.1. Poli (éster-uretanos).....	58
3.2.1.1. Mecanismo de hidrólise dos poli (éster-uretanos).....	58
3.2.2. Poli (éter-uretanos).....	59
3.3. Procedimento experimental.....	60
3.3.1. Ensaio de absorção de água (swelling).....	60
3.3.2. Degradação em tampão de fosfato (phosphate buffer saline-PBS).....	61
3.3.3. Degradação acelerada com peróxido de hidrogénio (H ₂ O ₂).....	61
3.3.4. Degradação acelerada com ácido nítrico (HNO ₃).....	62
3.4. Resultados e Discussão.....	62
3.5. Conclusão.....	77
3.6. Referências Bibliográficas.....	79

Capítulo 4

Comportamento Reológico dos Materiais	82
4.1. Introdução.....	82
4.2. Comportamento viscoelástico de polímeros.....	83
4.3. Medição das características reológicas.....	84
4.3.1. Reómetros de corte.....	84
4.3.2. Medições dinâmicas.....	85
4.4. Extrusão.....	86
4.5. Procedimento experimental.....	87
4.5.1. Preparação de provetes.....	87
4.6. Apresentação e Discussão de Resultados.....	87
4.7. Conclusão.....	92
4.8. Referências Bibliográficas.....	93
Conclusões Gerais	94

Lista de Figuras	Pág.
Figura 1.1. -Representação esquemática dos diferentes constituintes do osso.	4
Figura 1.2. -Osteócitos estão inseridos em cavidade <i>lacunae</i> comunicando entre si através de extensões <i>canaliculi</i> .	5
Figura 1.3. -Reacção entre um isocianato e um grupo hidroxilo formado a ligação uretano.	13
Figura 1.4. -Síntese de um Poliuretano.	14
Figura 2.1. - Representação esquemática do parafuso utilizado na extrusão dos materiais.	31
Figura 2.2. -Mini extrusora com três zonas de controlo de temperatura independentes.	31
Figura 2.3. -Fluxograma representativo do procedimento utilizado na preparação dos compósitos. (a) – via utilizada para aumentar a percentagem de carga no compósito.	33
Figura 2.4. – Métodos de polimerização por Pré-polímero e <i>One-Shot</i> .	34
Figura 2.5. -Espectro de infravermelho do PU1 com 10 dias (—) e com 65 dias (—).	40
Figura 2.6. -Tipos de ligações por pontes de hidrogénio entre as cadeias de poliuretano.	40
Figura 2.7. -Relação entre as áreas dos picos 1700 cm^{-1} (A2) e 1730 cm^{-1} (A1) para o PU1 em diferentes tempos.	41
Figura 2.8. -Espectros de infravermelho do PU1 Inicial (a) PU1 extrudido (b) PU1 após 36 dias (c) PU1 após 40 dias (d) e PU1 após 65 dias (e).	42
Figura 2.9. -Espectros de infravermelho dos poliuretanos: PU1(—) e PU2 (—), após síntese.	43
Figura 2.10. - Espectro de infravermelho dos poliuretanos PU3 e PU4.	44
Figura 2.11. -Espectro de infravermelho do BHA.	44
Figura 2.12. -Relação entre as áreas dos picos 1700 cm^{-1} (A2) e 1730 cm^{-1} (A1) para o PU4 em diferentes tempos.	45
Figura 2.13. -Comparação entre os picos de FTIR do polímero PU4 (—) após síntese e o mesmo polímero após 36 dias (—).	46
Figura 2.14. -Espectros de infravermelho dos polímeros PU5 (—) e PU3 (—), após síntese.	46
Figura 2.15. -Termogramas de DSC dos poliuretanos: (a) PU1, 1º Ciclo de aquecimento; (b) PU1, 2º Ciclo de aquecimento; (c) PU2, 1º Ciclo; (d) PU2, 2º Ciclo. Taxa de aquecimento: 10° C/min .	49
Figura 2.16. -Imagens da topografia (A e C) e fase (B e D) do PU1 a diferentes ampliações.	53

Figura 2.17. – Representação topográfica do PU2 obtida por AFM.	54
Figura 2.18. – Imagem de fase de AFM do PU3 (2 μ m *2 μ m à esquerda) e (500nm*500nm centro) e PU4 (à direita).	54
Figura 2.19. -Imagens da topografia e fase do PU5.	55
Figura 3.1. – Absorção de água de Poli éster-uretanos (PU1 e PU2) e Poli éter-uretanos (PU3-PU5) ao longo do tempo.	66
Figura 3.2. – Variações de massa dos polímeros durante o envelhecimento em PBS pH=7,4 e 5.	67
Figura 3.3. – Degradação acelerada <i>in vitro</i> de poliuretanos em meio ácido (0,5M HNO ₃) e meio oxidativo (30% v/v H ₂ O ₂).	68
Figura 3.4. – Espectros de FTIR das amostras sujeitas a degradação acelerada em H ₂ O ₂ . Comparação entre o Controlo e amostra incubada 5 dias (14 dias no PU4): (A) PU1; (B) PU2; (C) PU3; (D) PU4; (E) PU5.	75
Figura 3.5. - Espectros de FTIR das amostras sujeitas a degradação acelerada em HNO ₃ : Comparação entre o controlo e amostra PU1 incubada 14 dias (F); (G) PU2 incubado 5 dias em HNO ₃ e H ₂ O ₂ ; (H) PU3 incubado 5 e 14 dias; (I) PU4 incubado 5 e 14 dias; (J) PU5 comparação entre controlo e amostra incubada 14 dias.	77
Figura 3.6. - Imagens de SEM da superfície do PU5 (1000x): (A,C) Polímero sem tratamento; (B) Tratamento com H ₂ O ₂ durante 14 dias; (D) Tratamento com HNO ₃ durante 14 dias.	78
Figura 3.7. – Imagens obtidas por AFM da topografia e fase (direita) do PU5: (A) Sem tratamento; (B,C) Após 14 dias de tratamento com HNO ₃ .	79
Figura 3.8. -Termogramas de DSC do PU5: (a) Control e (b) PU5 sujeito a degradação em H ₂ O ₂ durante 14 dias; (c) PU5 sujeito a degradação em HNO ₃ durante 14 dias. Taxa de aquecimento 10 °C/min.	80
Figura 3.9. -Influência do teor em segmentos duros em poli éster-uretanos (PU1, PU2) e poli éter-uretanos (PU3,PU4, PU5) na perda de peso dos matérias sujeitos a degradação em H ₂ O ₂ (—) e HNO ₃ (—).	81
Figura 4.1. – Escoamento laminar tangencial.	88
Figura 4.2. -Reómetro de pratos paralelos.	90
Figura 4.3. -Micrografias do compósito PU5 70% HA 1000x (A) e 10000x (B).	93
Figura 4.4. -Empacotamento 74% em volume (— zonas de atrito).	95
Figura 4.5. -Viscosidades complexas (η^*) e módulos de conservação (G') em função da frequência, para os diferentes polímeros sem carga e carregados (30% HA).	95
Figura 4.6. -Efeito do aumento da percentagem de carga na viscosidade complexa (η^*) e módulo de conservação (G'). PU1 (0; 30 e 50% HA) e PU5 (0; 30 e 70% HA).	96

Lista de Tabelas	Pág.
Tabela 1.1 – Fosfatos de cálcio utilizados como biomateriais.	10
Tabela 2.1. – Resumo das composições utilizadas na síntese dos diferentes PU's.	36
Tabela 2.2. – Perfis de temperatura utilizados nos diferentes PU's.	36
Tabela 2.3. – Percentagem de enchimento dos materiais em % do peso da mistura inicial.	37
Tabela 2.4. – Propriedades térmicas de poliuretanos baseados em PCL e PTMO com diferentes pesos moleculares.	50
Tabela 2.5. – Teor em segmentos duros da série de polímeros PU.	51
Tabela 4.1. – Viscosidades de alguns materiais comuns.	87

Abreviaturas

ACP – fosfato de cálcio amorfo.

AFM –microscopia de força atômica.

BDO – butanodiol

CE –colesterolesterase.

CPC – cimento de fosfato de cálcio.

DCPD – fosfato de cálcio dihidratado.

DHEA – dihidroepiandrosterona.

DSC – calorimetria diferencial de varrimento.

ET – engenharia de tecidos.

FDA – food and drug administration.

FTIR – espectroscopia de infravermelho.

HA – hidroxiapatite.

MDA – metilenodianilina.

MDI – metileno-bis-diisocianato.

OXA – oxiapatite.

OCP – fosfato octacálcico.

PBT – poli(tetraftalatobutileno).

PCL – poli(caprolactona)

PCU – poli(carbonato-uretano).

PEG –poli(etilenoglicol).

PEUU – poli(uretano-ureia).

PHA – poli(hidroxialcanoato).

PGA – poli(ácido glicólico).

PLA – poli(ácido láctico).

PLGA – poli(ácido láctico glicólico).

PMMA – poli(metilmetacrilato)

PTMO – poli(tetra-óxido-metileno).

PU – poliuretano.

SBF – plasma humano simulado.

SEM – microscopia electrónica de varrimento.

SMPU – poliuretano com memoria de forma.

TCP – fosfato tricálcico.

TTCP – tetrafosfato de cálcio.

Introdução Geral

A aplicação de materiais poliméricos em fins biomédicos tem alcançado nos últimos anos um papel de grande relevo, com aplicações dirigidas a imagiologia, sistemas de libertação controlada de fármacos e regeneração de tecidos.

O grande número de casos clínicos, relacionados com reparação ou substituição óssea, tem levado à utilização de materiais para restabelecimento das funções do osso lesado por acção de tumores, fracturas ou defeitos. Estes materiais incluem enxertos de origem natural, uma série de biomateriais cerâmicos, metálicos e poliméricos, e ainda compósitos destes. A utilização de enxertos apresenta desvantagens relacionadas com a lesão do local dador (auto-enxertos) ou transmissão de doenças (alo-enxertos). Nesta óptica, os materiais surgem como uma solução com grande potencial. Contudo, persistem ainda problemas que se prendem com o ajuste das propriedades mecânicas. Os metais apresentam propriedades mecânicas que excedem as do osso, enfraquecendo o tecido ósseo circundante, tornando susceptível à fractura. Os cerâmicos, bastante utilizados em aplicações médicas, são bastante frágeis e de difícil conformação. Finalmente, os polímeros, falham quanto à rigidez e propriedades mecânicas sobretudo quando se requerem aplicações em locais de carga. No sentido de melhorar as propriedades dos materiais isolados, desenvolveram-se compósitos baseados em polímeros e cerâmicos, que superam as limitações mecânicas, possibilitando a sua aplicações como substitutos ósseos.

A eficiência dos biomateriais compósitos com respeito à capacidade como nucleadores do mineral do osso depende da sua estrutura ao nível microscópico (composição química, tamanho de grão). Experiências usando polímeros reforçados com HA, revelaram resultados bastante promissores no desenvolvimento de biomateriais para substituição óssea de sucesso. A extensão da incorporação de HA nestes polímeros, tem sido descrita como desenvolver um importante papel na deposição de osso *in vivo*.

O rápido crescimento na utilização de materiais compósitos, consistindo em polímeros e cerâmicos, deve-se largamente á sua ductilidade e fácil fabricação em produtos de varias formas, com aplicação não só como reparação óssea mas também na regeneração de tecidos moles.

Os principais requisitos para aplicação de polímeros como biomateriais resumem-se à sua biocompatibilidade, não exercer uma actividade inflamatória crónica, e para os degradáveis, que os seus produtos de degradação não sejam tóxicos. A capacidade para moldar as propriedades físicas e químicas de determinado polímero, no sentido de as ajustar a uma função particular, seja através do tipo de processamento ou química, torna-os extremamente atractivos para aplicações biomédicas. Adicionalmente, no que respeita a substituição óssea, os polímeros, exibem propriedades viscoelásticas similares às do osso.

Até à data, os poliuretanos, têm-se revelado materiais bastante versáteis e únicos na utilização em dispositivos médicos. Neste sentido, o desenvolvimento de biomateriais compósitos, aliando as propriedades físicas e químicas do poliuretano (que facilmente são modificadas), à resistência e semelhança química com osso, dos fosfatos de cálcio, poderá levar ao aparecimento biomateriais bastante promissores no restabelecimento da função óssea.

O presente trabalho tem como objectivos: (i) a preparação de um compósito para aplicações ósseas com elevada resistência à degradação, eventualmente alcançada com o uso de antioxidantes não tóxicos. A sua resistência mecânica deverá ser elevada, para que possa ser aplicado em locais de carga como por exemplo o fémur. Estas propriedades podem ser alcançadas através de enchimentos cerâmicos como a HA, que potenciam a ligação do material ao osso nativo. Como praticamente todos os materiais implantados no organismo sofrem algum grau de degradação, (ii) desenvolver um compósito de poliuretano-fosfato de cálcio com uma formulação no sentido da bioestabilidade, pode evitar a libertação de produtos tóxicos.

Por último, como a grande preocupação do desenvolvimento de compósitos passa pela homogeneização do enchimento na matriz, a extrusão destes materiais pode garantir a total dispersão do fosfato de cálcio, (iii) dando lugar ao estudo das reologia dos mesmos.

Capítulo 1

Introdução

1.1. Biomateriais

O campo dos biomateriais encontra-se em rápida expansão. Estima-se que este domínio represente dois a três por cento do total das despesas de saúde em países desenvolvidos. As despesas a nível mundial, podem chegar aos 100 biliões de dólares por ano [1]. Estes materiais têm que apresentar uma série de requisitos fundamentais em que o mais importante entre eles é sem dúvida a biocompatibilidade. De acordo com Williams [1987], biomaterial é um *“material que pode ser usado em implantes ou dispositivos médicos, com a intenção de interagir com os sistemas biológicos”*. No entanto, ao longo dos últimos trinta anos, este conceito tem vindo a ser estendido, distinguindo-se por exemplo, a compatibilidade de superfície (que relaciona a morfologia de superfície com a biocompatibilidade), aspectos químicos, biológicos e estruturais (que se refere ao módulo de Young e características de deformação) do implante. Mais recentemente, tem-se verificado um grande interesse na utilização de biomateriais poliméricos em várias áreas da medicina, especialmente em cardiologia, ortopedia, oftalmologia e libertação controlada de fármacos [2].

Muito do trabalho efectuado, irá ser discutido em torno das propriedades do osso. Para melhor compreensão, irá desenvolver-se um pouco da ciência que está por detrás da formação da parte mineral do osso, desenvolvimento ósseo e suas propriedades.

1.2. Tecido Ósseo

O osso é um tecido em constante modelação/remodelação, apresentando dois subtipos, o tecido vascular e o tecido calcificado.

1) Tecido Vascular

Este é composto não só pela medula óssea que actua como habitat das células hematopoiéticas e células estaminais não diferenciadas, mas também por vasos sanguíneos que possibilitam as trocas metabólicas e a transferência de sinais moleculares que permitem manter a dinâmica de remodelação do osso.

2) Tecido Calcificado

O tecido calcificado é composto por uma fase mineral, essencialmente hidroxiapatite (HA) envolta numa matriz orgânica constituída maioritariamente por colagénio. A sua função, é em primeiro plano mecânica fornecendo o suporte aos músculos e metabólica, actuando como reservatório mineral de cálcio (Ca) e fósforo (PO_4).

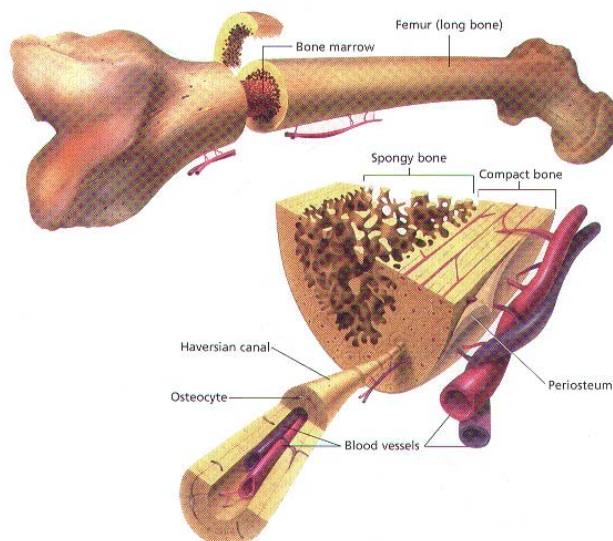


Figura 1.1. – Representação esquemática dos diferentes constituintes do osso.

O processo de ossificação ocorre pela acção de osteoblastos, através da extensão de prolongamentos citoplasmáticos que se unem a prolongamentos de osteoblastos vizinhos. Posteriormente, é formada uma matriz óssea extracelular, contendo fosfato de cálcio e colagénio que envolve as células. Após a formação da matriz, alguns osteoblastos ficam presos nesta, resultando em osteócitos (Figura 1.2) que podem comunicar entre si através de canais que conduzem os nutrientes necessários à sua subsistência.

Pode dar-se como exemplo de remodelação a formação de osso durante a reparação de uma fractura, em que o primeiro osso resultante é denominado Osso Imaturo. Seguidamente existe um processo de remodelação com degradação da matriz óssea, pelos osteoclastos, com formação de nova matriz, em que, as fibras de colagénio se encontram organizadas para formar lamelas criando Osso Maduro.

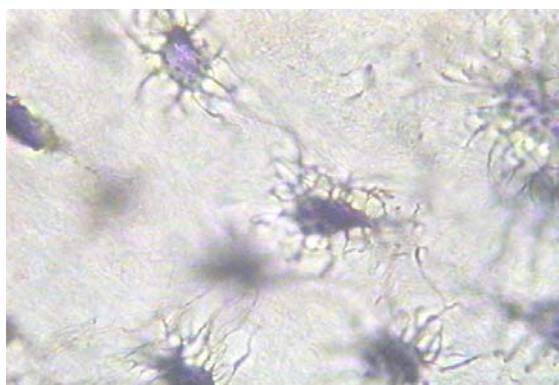


Figura 1.2. – Osteócitos estão inseridos em cavidade *lacunae* comunicando entre si através de extensões *canaliculi*.

A estrutura anisotrópica do osso leva a que as suas propriedades exibam direcionalidade. O compromisso entre tenacidade e dureza encontra-se optimizado no osso. Assim, é observado um comportamento viscoelástico e semi-frágil. A resistência à compressão do osso compacto, no sentido longitudinal, situa-se na gama 131-224 MPa, e o módulo de Young entre 17-20 GPa. A tenacidade à fractura é mais elevada na direcção transversal que na longitudinal. As propriedades mecânicas do osso trabecular são altamente dependentes da sua densidade. A resistência à compressão, varia entre 5-10 MPa, enquanto o módulo de Young encontra-se na gama 50-100 Mpa [3].

1.3. Biomateriais Utilizados na Substituição do Tecido Ósseo

Nos últimos 50 anos, a transplantação de vários tipos de tecidos, técnicas de construção cirúrgica e substituição com dispositivos mecânicos têm contribuído significativamente para a recuperação dos doentes. Infelizmente, o transplante de órgãos ou tecidos é uma solução limitada por determinado número de factores [4].

A engenharia de tecidos tem um papel de extrema relevância nesta matéria, sendo “*um campo interdisciplinar que aplica os princípios e métodos da engenharia e das ciências da vida visando o desenvolvimento de substitutos biológicos que restaurem, mantenham ou melhorem a função do tecido*”. Ela veio oferecer uma aproximação promissora na reparação de fracturas ósseas com perda de osso, fracturas que não curam e fracturas que ocorrem na presença de tumores. Este objectivo levou ao desenvolvimento de novos dispositivos funcionais, que resultam dos esforços comuns de biólogos, matemáticos, engenheiros e clínicos.

As interacções das células do osso com materiais sintéticos têm sido objecto de estudos intensivos, precisamente pela necessidade crítica de materiais que ajudem na regeneração de tecido ósseo. Actualmente, os cirurgiões ortopédicos enchem estes defeitos com enxertos autógenos, enxertos alógenos ou vários tipos de materiais sintéticos [5].

1.3.1. Enxertos ósseos

Há cerca de 100 anos, começaram a usar-se os primeiros implantes ósseos para corrigir defeitos causados por doença ou trauma, tais como fracturas com perda de osso, infecções ósseas e tumores.

Os autoenxertos e aloenxertos, apesar dos problemas associados, continuam a prevalecer em relação aos seus concorrentes directos sintéticos [6]. Os autoenxertos histocompatíveis e sem risco de transmissão de doenças são ainda os melhores materiais para reparação óssea. A utilização de osso alogénico pode levar à transmissão de doenças e causar resposta imune, levando assim à sua falha. As vantagens relativamente aos autoenxertos, incluem maior disponibilidade, evitando a necessidade de uma segunda cirurgia para extrair osso do local dador, e a possibilidade de reconstruir grandes defeitos provocados pela intervenção.

A aplicação de autoenxertos como substituto de osso cortical é utilizada para curar defeitos ósseos críticos e defeitos em cirurgias maxilofaciais. A extracção do enxerto é traumática, causando a morte aos tecidos do local dador, muitas vezes resultando em complicações clínicas. Desta forma, existe a necessidade de novos materiais, biologicamente funcionais para actuarem como substitutos dos autoenxertos de osso que, combinados com a medula óssea do paciente, possam ser utilizados para promover a regeneração óssea em defeitos de tamanho crítico [7].

1.3.2. *Materiais Sintéticos*

Os materiais com características ideais para implantes sujeitos a carga devem reunir determinadas propriedades funcionais, biológicas e mecânicas, dependentes do procedimento cirúrgico ou local de implante. O material terá de ser biocompatível, podendo apresentar benefícios adicionais como bioactividade, sendo osteocondutivo e/ou osteoindutivo. Os biomateriais têm adquirido uma gama de propriedades que permitem a sua aproximação às propriedades do tecido receptor circundante.

Quando um material estranho entra em contacto com o organismo, imediatamente irá adsorver proteínas à superfície e a camada proteica adsorvida irá determinar eventos futuros como, a adesão de plaquetas, agregação ou resposta inflamatória [8].

Os modelos de culturas celulares *in vitro* que permitem a interacção biomaterial/célula, têm sido usados para o desenvolvimento de novos biomateriais. Apresentam, ainda, a vantagem de se poder estudar as interacções célula/material sem a existência de reacções concomitantes que acontecem quando um material estranho é implantado *in vivo*. Permitem não só a investigação da citotoxicidade e biocompatibilidade do material, como o estudo de eventos específicos tanto das células como dos materiais. Em suma, a adesão celular a biomateriais é considerada como um dos estágios mais importantes na interacção célula/material [9].

No caso de existir potencial regenerador, o material ideal deve (i) ser quimicamente biocompatível, (ii) possuir integridade estrutural, com objectivo de manter o desempenho funcional até formação de novo osso e (iii) ser controladamente solúvel, de forma a permitir a resorção até que o osso do paciente o substitua [10].

1.3.2.1. *Materiais Metálicos*

O osso cortical do fémur humano apresenta as seguintes características mecânicas; um módulo elástico entre 17-27 e 6-13 GPa, resistência tensil entre 80-150 e 50-60MPa, na direcção longitudinal (ao longo do eixo do osso) e transversa. O módulo elástico efectivo e força tensil encontram-se na gama 0,05-0,5 GPa e 1-20 MPa, respectivamente, podendo variar em função da densidade aparente. As propriedades efectivas do osso trabecular têm valores significativamente mais baixos que as do osso cortical devido à sua estrutura porosa (70-95% de porosidade). Assim, actualmente os implantes metálicos são os mais utilizados, seguidos dos cerâmicos densos por

apresentarem propriedades mecânicas que são tipicamente uma ordem de magnitude superiores às do tecido ósseo.

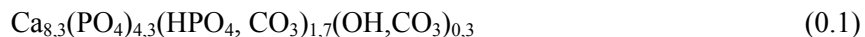
Os dispositivos metálicos (aço inoxidável, titânio) actuam como escudo às solicitações mecânicas do tecido adjacente. Quando o tecido ósseo é insuficientemente carregado, a relação entre a resorção de osso pelos osteoclastos excede a formação de novo osso pelos osteoblastos, resultando num enfraquecimento do osso na interface osso-implante. Outro problema potencial é que as ligas actualmente usadas corroem até certo ponto. Os iões causam reacções adversas ao tecido local assim como respostas imunitárias que levantam questões sobre efeitos adversos na mineralização do osso, bem como respostas sistémicas adversas como formação local de tumores (Martin et al., 1988). Nestes casos é normalmente recomendada uma segunda operação para retirar o implante. Sendo assim, as vantagens dos dispositivos absorvíveis são duplas. Em primeiro lugar, degradam-se mecanicamente ao longo do tempo, reduzindo a tensão inerente à protecção e evitando fenómenos como a osteoporose. Em segundo lugar, não há necessidade de procedimentos cirúrgicos secundários para os retirar. O estado de tensão no local da fractura retorna gradualmente ao nível fisiológico, permitindo a normal remodelação do osso.

1.3.2.2. Materiais Cerâmicos

A utilização de cerâmicos tem sido limitada pela baixa tenacidade à fractura destes materiais. A primeira utilização de fosfatos de cálcio como biomateriais de reparação óssea foi reportada em 1920 e cinquenta anos mais tarde foi feita a primeira aplicação dentária, erroneamente descrita como fosfato tricálcico. A comercialização de HA sintética para aplicações médicas ocorreu nos anos 80, devido aos esforços pioneiros de Jarcho [11], Groot [12] e Aoki [13].

Os fosfatos tricálcicos (TCP's) e a HA são normalmente referidos como biocerâmicos, isto é, cerâmicos bioactivos. Esta definição deve-se à sua capacidade de induzir uma resposta biológica específica, resultante numa ligação entre tecidos e material. A sua elevada semelhança composicional com a fase mineral do osso tem potenciado a sua utilização em ortopedia e medicina dentária, sós ou em combinações com outras substâncias, designadamente como revestimentos de implantes metálicos. A osteocondutividade pode ser controlada pelo desenvolvimento de geometrias específicas. De interesse particular salientam-se os fosfatos de cálcio com relações molares Ca/P entre 1,5 (TCP) e 1,67 (HA). Esta última tem recebido maior atenção, tratando-se do componente mineral em maior abundância no osso, ocorrendo no osso, ocorrendo sob a forma nativa de nanocristais. Contudo, a estrutura ideal ou hidroxiapatite estequiométrica

$\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$, com relação atômica Ca/P de 1,67, é significativamente diferente da composição mineral do osso, que assume a fórmula:



A não estequiometria óssea é preliminarmente devida à presença de íons divalentes como CO_3^{2-} e HPO_4^{2-} , em substituição de íons trivalentes PO_4^{3-} . Estas substituições alteram a relação Ca/P para valores entre 1,50 e 1,70 dependendo da idade ou local do osso [6, 10].

A forma pura de HA pode ser preparada por reacção de estado sólido, métodos hidrotérmicos, micro-ondas ou por sinterização ($\approx 1000^\circ \text{C}$) da apatite obtida por métodos sol gel. A esta temperatura é decomposta parcialmente em oxiapatite (OXA) e acima dos 1300°C transforma-se em α -fosfato tricálcico (α – TCP) e tetrafosfato de cálcio (TTCP). A sua forma comercial é geralmente produzida por sinterização da apatite obtida por precipitação controlada [14].

O TCP apresenta uma composição nominal $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$, sendo a sua designação mineral *whitlockite*, e é em geral utilizado na forma *beta* (β -TCP). Esta pode ser obtida através de tratamento térmico acima de 650°C de misturas equimolares de fosfato dicálcico dihidratado (DCPD) e HA precipitada com posterior calcinação ou calcinação de HA comercial. Este fosfato de cálcio é degradável através da actividade osteoclástica. A sua forma α apresenta exactamente a mesma composição química, todavia a estrutura cristalográfica é diferente (monoclínica). Esta diferença faz com que o α -TCP seja mais solúvel que o β -TCP. É obtido por calcinação de β -TCP a 1125°C .

O fosfato dicálcico dihidratado também conhecido por *brushite* ($\text{CaHPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) é considerado como o precursor da HA na calcificação óssea. A sua composição metaestável pode ser convertida em fosfato octacálcico (OCP) e, finalmente HA. Quando grandes quantidades de DCPD são transformadas em HA *in vivo*, podem dar-se reacções inflamatórias devido à grande libertação de ácido [15].

O OCP ($\text{Ca}_8\text{H}_2(\text{PO}_4)_6 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$) foi reportado como sendo um dos precursores para a formação de fosfatos de cálcio nos dentes, osso e outros biomateriais. É biocompatível, biodegradável e osteocondutivo. Pode ser preparado por hidrólise do DCPD ou α -TCP ou por precipitação de soluções saturadas de fosfato de cálcio.

O fosfato de cálcio amorfo (ACP) apresenta uma relação molar Ca/P de 1,50 e é mais solúvel que o DCPD. Têm sido obtidos produtos altamente reactivos através de combinações com DCPD

resultando num material caracterizado como HA de baixa cristalinidade com grande semelhança ao encontrado no osso. No entanto, estas fases desintegram-se parcial ou completamente ou exibem graus de dissolução distintos assim que entram em contacto com soluções aquosas. O seu comportamento reológico em termos de escoamento não é o melhor, a existir apenas sob elevadas pressões de trabalho [5, 16].

Tabela 1.1. – Fosfatos de cálcio utilizados como biomateriais.

Nome/Abrev.*	Relação molar Ca/P	Utilização
Hidrogenofosfato de cálcio (DCPA) CaHPO_4	1,00	cimentos/revestimentos
Hidrogenofosfato de cálcio di-hidratado (DCPD) $\text{CaHPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	1,00	cimentos/revestimentos
Fosfato octacálcico (OCP) $\text{Ca}_8(\text{HPO}_4)_2(\text{PO}_4)_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$	1,33	revestimentos/implantes
Fosfato tricálcico β (β -TCP) $\beta\text{-Ca}_3(\text{PO}_4)_2$	1,50	revestimentos/implantes/compósitos
Fosfato tricálcico α (α -TCP) $\alpha\text{-Ca}_3(\text{PO}_4)_2$	1,50	cimentos
Hidroxiapatite estequiométrica (HA) $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$	1,67	revestimentos/compósitos/implantes
Hidroxiapatite precipitada (PHA) $\text{Ca}_{10-x}(\text{HPO}_4)_x(\text{PO}_4)_{6-x}(\text{OH})_{2-x}$	1,50-1,80	revestimentos/compósitos/implantes
Fosfato tetracálcico (TTCP) $\text{Ca}_4(\text{PO}_4)_2\text{O}$	2,00	cimentos

*Mantiveram-se as abreviaturas inglesas por uma questão de facilidade na consulta bibliográfica.

1.3.2.3. Cimentos de fosfato de cálcio

Esta nova aproximação foi descoberta por Brown e Chow nos anos 80. Contudo, apesar da vasta gama de composições os cimentos de fosfatos de cálcio (CPC) apenas podem levar a três produtos de reacção finais: (i) hidroxiapatite precipitada (HA), (ii) *brushite* (DCPD) e (iii) fosfatos de cálcio amorfos (ACP). Como o ACP é rapidamente convertido em HA, todos os cimentos são classificados em duas categorias gerais: CPC's de apatite e CPC's de *brushite*. São feitos a partir de soluções aquosas de um ou vários fosfatos de cálcio. Após agitação, o fosfato de cálcio dissolve-se e precipita num outro CaP menos solúvel. Durante a reacção de precipitação, os cristais crescem e associam-se fornecendo rigidez mecânica ao cimento. A resistência à tracção destes materiais é cerca de vinte vezes inferior à sua resistência à compressão. A maioria dos CPC's apresenta resistências à tracção de 1 a 10 MPA, enquanto que a compressão se situa entre 10 a 100 Mpa. Assim sendo, apenas podem ser utilizados em combinação com implantes metálicos ou em zonas que impliquem baixa solicitação mecânica [17].

1.3.2.4. Materiais Poliméricos

Entre os materiais degradáveis com potencial para substitutos ósseos encontram-se os polímeros de origem natural, como proteínas ou polissacáridos, ou sintéticos como poli (hidroxi-ácidos) ou poliuretanos.

Na década passada um dos principais objectivos da engenharia de tecidos (ET) foi o desenvolvimento de materiais biodegradáveis para utilização como substitutos ósseos em preenchimento de grandes defeitos. Estes materiais devem manter a força mecânica adequada em fases críticas do processo de cura, serem osteocondutivos, e degradarem-se a uma velocidade controlada, dando espaço à formação de osso novo. Os polímeros biodegradáveis como poli (ácido glicólico) (PGA), poli (ácido láctico) (PLA), poli (ácido láctico glicólico) (PLGA) encontraram aplicação em suturas reabsorvíveis, parafusos de fixação. Podem ser usados como ligantes para HA e TCP, para eliminar problemas de fragilidade e dificuldade de arquitectura, promovendo o ajuste aos defeitos do osso. Ao mesmo tempo o reforço biocerâmico aumenta as propriedades mecânicas e osteocondutividade, conferindo aos compósitos biodegradáveis polímero/biocerâmico propriedades bastante promissoras no restauro da função óssea.

O quitosano é um polímero N-deacetilado derivado da quitina (um dos polissacáridos mais abundantes na natureza). Presentemente, tem provado ser um material biodegradável com libertação de produtos não tóxicos. Contudo, alguns estudos recentes, indicam o quitosano com um grau de deacetilação superior a 60% como um material de baixo grau de degradação e dificilmente reabsorível *in vivo* [16].

A poli (ϵ -caprolactona) (PCL), tem sido estudada principalmente para implantes de longo termo, para libertação controlada de fármacos devido ao seu longo tempo de biodegradação. As propriedades mecânicas deste material foram melhoradas por copolimerização com PLA, permitindo assim a sua aplicação ortopédica.

Os Poli-hidroxialcanoatos (PHA's) são uma classe de polímeros naturais com propriedades termoplásticas. Esta capacidade permite a sua fabricação em diferentes formatos consoante a aplicação desejada. As reduzidas propriedades mecânicas fizeram com que a sua utilização fosse dirigida para válvulas cardíacas e vasos sanguíneos. Os hidrogéis encontraram aplicação como suportes de células e/u biomoléculas (factores de crescimento, DNA) para posterior injeção no corpo humano de uma forma pouco invasiva. Neste sentido, os hidrogéis podem actuar como matrizes extracelulares, criando um ambiente propício ao crescimento e diferenciação celulares [2]. O hidrogel *pluronic F-127* (copolímero de 70% óxido de etileno e 30% de óxido de propileno) é um exemplo das possíveis aplicações utilizado fundamentalmente como suporte celular [4].

Uma das desvantagens destes materiais é que a sua degradação *in vivo* pode baixar o pH local, acelerando o processo de degradação e conduzindo á resposta inflamatória. Por consequência, podem ocorrer alterações significativas nas propriedades físicas destes mesmos materiais, que em última instância podem levar à falha do implante. As alterações químicas envolvem o rompimento de ligações covalentes, reticulação ou formação de ligações iónicas. As alterações físicas, por outro lado, podem significar plastificação, cristalização ou perda de cristalização, fractura por fadiga [18]. Outra desvantagem é que as propriedades mecânicas são relativamente fracas, o que limita a sua aplicação à regeneração de tecido ósseo [19].

Os polímeros termoplásticos oferecem grande potencial, especialmente como suportes para ET, mas ainda apresentam baixa resistência para aplicações sujeitas a elevadas cargas. Para eliminar os problemas de compatibilidade mecânica, muitos autores dedicam-se ao estudo de biomateriais sintéticos com propriedades mecânicas idênticas às do tecido ósseo humano. Os materiais compósitos oferecem uma aproximação em termos de design mas ainda não encontraram aplicação significativa ao nível médico. Os polímeros reforçados com partículas são materiais a considerar pelo seu baixo custo, facilidade de processamento e possibilidade de modulação de propriedades.

1.3.2.5. Poliuretanos

Os poliuretanos (PU's) são uma classe de polímeros utilizados numa vasta gama de aplicações como espumas, revestimentos, fibras e materiais biomédicos. A descoberta da ligação uretano remonta ao ano 1849 quando Wurtz e Hoffmann estudaram a reacção entre um isocianato e um composto com grupos funcionais álcool.

O trabalho pioneiro no campo dos poliuretanos foi reportado pelo Dr. Otto Bayer em 1937 [20, 21], que descreveu a poli adição de isocianatos e poliois (Figura 1.3). O grupo dos poliuretanos inclui todos os polímeros que contenham a ligação uretano, ureia ou grupos derivados de isocianato, mesmo que constituam a menor parte da estrutura total.



Figura 1.3. -Reacção entre um isocianato e um grupo hidroxilo, formando a ligação uretano.

Existem ainda dois grupos dominantes nos poliuretanos: (i) os poliuretanos com ligações covalentes de reticulação, que são, para além de outras aplicações, utilizados como espumas flexíveis ou rígidas, dependendo da sua composição química; (ii) outro grupo importante são os poliuretanos segmentados, uma categoria que apresenta uma estrutura de fases separadas e possui propriedades elastoméricas e termoplásticas, utilizados em vários tipos de aplicações como válvulas cardíacas ou enxertos vasculares [2].

Esta família de polímeros pode apresentar uma grande variedade de propriedades, que resultam das muitas variações moleculares que se podem obter através do uso da ligação uretano.

1.3.2.5.1. Química dos poliuretanos

Quimicamente os poliuretanos são caracterizados pela presença da ligação uretano a qual aparece repetida várias vezes, não necessariamente de uma forma regular. Para além desta ligação outras

moléculas de diferente carácter podem fazer parte do polímero, como grupos éster, éter, alofanato, ureia, amida etc.

A formação do poliuretano envolvendo a reacção entre um poliol e um isocianato encontra-se ilustrada na Figura 1.4.

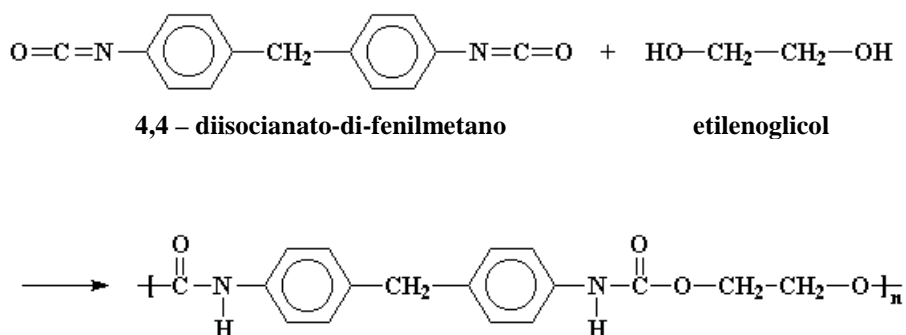


Figura 1.4. – Síntese de um Poliuretano.

O poliol (múltiplos grupos OH) terá que ter pelo menos dois grupos reactivos (neste caso dois grupos OH) para se dar a polimerização. Se três ou mais grupos estiverem presentes, pode existir reticulação. O outro monómero necessário à formação da ligação uretano é o isocianato (combinação de átomos $-\text{N}=\text{C}=\text{O}$). Este monómero também tem de ter pelo menos dois grupos reactivos (diisocianatos) para formar um polímero. Quando os monómeros, poliol e isocianato, apresentam cada um apenas dois grupos funcionais, é formado um polímero **termoplástico linear**. As porções de isocianato destes polímeros tendem a agregar-se em domínios correspondentes a uma estrutura com separação de fases (domínios duros e domínios moles), conferindo uma resistência adicional ao polímero. Os elastómeros termoplásticos de poliuretano podem ser processados por injeção ou extrusão [22].

1.3.2.5.2. Poliuretanos como Biomateriais

Os poliuretanos (PU's) são dos materiais mais bio e hemo-compatíveis conhecidos actualmente. Estes materiais têm um papel fundamental no desenvolvimento de muitos dispositivos médicos desde cateteres a corações. Propriedades como durabilidade, carácter elástico, resistência à fadiga e tolerância no organismo durante a cura contribuíram para que existam, segundo a *Food and Drug Administration* (FDA), cerca de 2600 tipos diferentes de dispositivos médicos e cerca de 2000 produtos de diagnóstico [21]. A modificação interna, por balanço hidrofílico/hidrofóbico, ou de superfície, pela anexação de espécies biologicamente activas como anticoagulantes e grupos biorreconhecidos, são possíveis nos poliuretanos.

Os poli (carbonato uretanos) (PCU's) têm demonstrado maior resistência à fractura por acção de carga ou à oxidação por iões metálicos que os poli (éster-uretanos) e poli (éter-uretanos); contudo foi demonstrado que são bastante susceptíveis à hidrólise [23]. Os poli (éster-uretanos), hidroliticamente instáveis, foram substituídos em aplicações de longo prazo pelos mais resistentes mas sensíveis à oxidação poli (éter-uretanos) e seus clones contendo silicone e outros modificadores poliméricos [24].

1.3.2.5.3. Importância da degradação de polímeros usados como biomateriais

O tema de degradação de polímeros é de grande importância em engenharia biomédica e tecnologia farmacêutica. Existem muitas situações em que polímeros inertes são usados na construção de próteses e implantados no corpo com o propósito de aí permanecerem um considerável período de tempo. Acontece que estes polímeros são degradados pelo ambiente fisiológico, podendo ficar comprometida a biocompatibilidade e a funcionalidade do implante. A compreensão deste fenómeno é um factor determinante na estratégia de modificação do polímero para o tornar mais compatível com o meio de implantação.

1.3.2.5.4. Mecanismos de degradação

A degradação dos polímeros *in vivo* é extremamente complexa pelo possível envolvimento de agentes, como enzimas. Os únicos mecanismos de degradação assinaláveis são a hidrólise e a oxidação.

A velocidade de degradação destes materiais é um factor de grande importância, apresentando grande variabilidade e dependência da estrutura química do polímero [25].

A degradação durante o processamento é fundamentalmente térmica. Os efeitos de esterilização podem ser térmicos, radiológicos ou hidrolíticos, dependendo da técnica de esterilização utilizada.

1.3.2.5.4.1. Hidrólise

Nos PU's existem dois mecanismos de hidrólise possíveis. O mais provável envolve a quebra da ligação éster produzindo duas cadeias mais pequenas. A outra possibilidade é a quebra da ligação uretano. Este caso apenas é favorecido se um poli (éster uretano) contiver ligações carboxilo estericamente impedidas. Os materiais com menor peso molecular sofrem cisão de cadeia mais rápida levando a uma formação mais rápida de fragmentos solúveis. A susceptibilidade à hidrólise resulta principalmente da presença de ligações éster na cadeia. A água reage com a ligação éster-carboxílica partindo-a em duas partes menores. Uma delas termina num grupo hidroxilo enquanto outra num grupo carboxilo. O carácter ácido desta última acelera a hidrólise dos restantes segmentos de PU. Nesta situação é possível que se observe uma redução de pH.

Nos poli (éter-uretanos), que são geralmente mais estáveis, a cisão dá-se ao nível da ligação uretano, produzindo duas cadeias menores, uma terminada em grupo hidroxilo outra em amina (degradação a longo prazo). Neste tipo de degradação é possível que se observe um aumento de pH [26].

1.3.2.5.4.2. Oxidação

Um dos problemas dos PU's implantáveis é a sua instabilidade molecular em ambientes biologicamente activos. Isto depende, em parte, da estrutura química do material. Em geral os copolímeros poli (éster-uretanos-ureia) e poli (esteruretanos-dialquilsiloxano) são mais estáveis *in vivo* que os poli (éter-uretanos) ou poli (éster-uretanos) regulares; todavia há excepções à regra.

A degradação *in vivo* procede basicamente através de cisão hidrolítica das ligações éster e uretano e ataque oxidativo dos segmentos poliéter, que pode ser acelerado pela acção de enzimas e peróxidos e pela actividade catalítica de iões metálicos, formação de grupos carboxílicos ou efeito de carga nos implantes. Pode também ser promovida pela calcificação, que é a deposição de sais de cálcio (normalmente HA) no implante, com ocorrência mais frequente quando os biomateriais são implantados entre tecido conjuntivo e tecido duro. Outro factor que afecta a razão de calcificação é a capacidade do material para absorver água. Os poli (éter-uretanos), sendo hidrofílicos, são mais susceptíveis à calcificação que os poli (éster-uretanos) hidrofóbicos, em que a calcificação poderá ocorrer só à superfície do material. O aumento de segmentos duros nos PU's reduz a capacidade de mineralização. Os potenciais locais para a complexação dos iões de cálcio são as porções éster e amida das ligações uretano e eventualmente o oxigénio carbonílico [26].

1.3.2.5.5. Toxicidade dos produtos de degradação

Os PU's não degradáveis têm sido utilizados em aplicações que requerem contacto com o sangue, como válvulas cardíacas, membranas para diálise, implantes mamários, enxertos aórticos e adesivos ósseos. A sua estabilidade determina que os seus produtos de degradação sejam libertados a uma taxa muito lenta, que por vezes não atinge os valores citotóxicos.

Os PU's biodegradáveis são utilizados numa variedade de implantes como *scaffolds* para engenharia de tecidos, adesivos tecidulares, órgãos artificiais e sistemas de libertação de fármacos. São sintetizados pela incorporação de partes hidrolisáveis na cadeia polimérica. No entanto, estes polímeros produzem invariavelmente produtos intermédios tóxicos que impõem limitações severas ao seu uso *in vivo*. Por exemplo, PU formado pela reacção de poly (D,L-lactico) diol com 4,4-metileno diisocianato (MDI) hidrolisa *in vivo* em metilenodianilina (MDA), um produto considerado carcinogénico. Os diisocianatos alifáticos incluindo 4,4-metilenodieciclohexil diisocianato e hexametileno diisocianato também têm sido considerados tóxicos embora as diaminas correspondentes sejam menos tóxicas.

A biocompatibilidade é também comprometida pelo uso de catalizadores na síntese, geralmente considerados tóxicos. Finalmente, outra desvantagem dos PU's utilizados como materiais degradáveis no campo biomédico é a baixa taxa de degradação e resorção do grupo uretano, por vezes combinado com a libertação de diaminas aromáticas tóxicas [27].

Zhang *et al* [28] desenvolveram uma nova geração de poliuretanos-ureia com base péptido e iniciaram testes para verificar a sua capacidade de suportar o crescimento celular *in vitro*. Este

polímero é composto por um diisocianatolisina e um glicerol que se degrada em componentes não tóxicos, lisina, glicerol e etanol. Observaram que o polímero LDI-glicerol apresenta maior grau de biocompatibilidade que as matrizes até então utilizadas, pelo facto de degradar em lisina e glicerol não tóxicos, permitir a incorporação de proteínas de interesse (factores de adesão celular e/ou factores de crescimento) capazes de estimulação celular, capacidade para variar a topologia por alteração da funcionalidade e finalmente alteração das propriedades mecânicas, características de um elastómero, para termoplástico.

As taxas de degradação a várias temperaturas demonstraram a biodegradabilidade do polímero, sem que os seus produtos de degradação afectem significativamente o pH do ambiente.

Existem no entanto alguns aspectos a controlar, quando se trabalha com materiais biodegradáveis. Estes, para além de poderem apresentar uma cinética de degradação não adequada, podem libertar produtos que não sejam metabolizados, ou que apresentem algum grau de toxicidade. Para se evitar esta situação, a maioria dos biomateriais degradáveis utilizadas actualmente são de origem natural ou derivados. Neste contexto, as aplicações ficam cingidas à engenharia de tecidos moles ou tecidos duros onde a carga aplicada seja mínima.

1.3.3. Compósitos de poliuretano para aplicação como biomateriais

Os materiais compósitos consistem em duas ou mais fases distintas. As suas propriedades dependem da forma e tamanho do enchimento, da sua fracção, tipo de matriz e integridade da interface entre constituintes. O primeiro compósito polímero/biocerâmico foi introduzido, em 1981, por Bonfield *et al.* [29-35]. Foi escolhida a HA, por ser o constituinte mineral em maior abundância no osso, e como o colagénio é de difícil manuseamento utilizaram nos estudos iniciais compósitos com polietileno, por ser termoplástico e ter um módulo elástico muito semelhante ao do osso. Desde então, outros polímeros têm vindo a ser estudados para a preparação de compósitos com biocerâmicos, tais como PMMA's, PHA's, PLLA, PGA, policaprolactona (PCL), ou até polímeros naturais como o quitosano. No entanto, só muito recentemente se observou algum interesse na utilização de PU's para este efeito. Geralmente, os materiais cerâmicos bioactivos conferem rigidez e actividade biológica ao compósito enquanto que o material polimérico viscoelástico confere tenacidade. As partículas cerâmicas activam a nucleação de crescimento ósseo e, dependendo da sua composição permanecem no osso reconstruído ou são reabsorvidas.

A biocompatibilidade e integração óssea de um compósito de poliuretano e silicofosfato de cálcio foram investigadas por Ignatus *et al* [36], por comparação com titânio comercialmente puro. Seis meses após a implantação em ovelhas, a tensão de corte interfacial era mais alta entre o titânio e osso que entre o compósito e osso. Após 2 anos, a tensão de corte era significativamente mais elevada no grupo do compósito. Histologicamente, ambos implantes foram cercados por osso e tecido fibroso e não havia nenhuns sinais de inflamação. A biocompatibilidade e integração de óssea do compósito foi muito boa no implante.

Compósitos PU/HA foram obtidos e estudados por Rich *et al.* [37], que desenvolveram um pré-polímero de ácido láctico com adição de diisocianato. A polimerização do pré-polímero de ácido láctico com diisocianato foi efectuada usando 1,4-tetrametilenodiisocianato (BDI) e prépolímero + BDO (1:1). Seguidamente, prepararam compósitos de PEU/HA e PEU/DCP. O resultado da degradação foi a 1,4-butano-diamina, também conhecido por putrescina que, sendo um produto endógeno das células, não apresenta qualquer toxicidade.

Os poliuretanos poliéteres, enquanto hidroliticamente estáveis, podem estar sujeitos a degradação oxidativa em várias situações, incluindo tensão aplicada e oxidação por iões metálicos. Para utilizar poliuretanos com segurança em dispositivos biomédicos de longo prazo os mecanismos de biodegradação devem estar perfeitamente entendidos e consequentemente prevenidos [38]. É agora aceite que os produtos com oxigénio activo libertados pelos macrófagos e células gigantes iniciam a biodegradação dos materiais. Uma das estratégias adoptadas na protecção da oxidação é a estabilização com antioxidantes sintéticos. Pode contudo existir a libertação de produtos tóxicos, derivados do antioxidante. Os denominados *oxygen radical scavengers* são consumidos na reacção e vão perdendo eficácia ao longo do tempo [39].

1.3.4. Bioestabilidade de poliuretanos utilizados como biomateriais

Anderson *et al* estudaram os mecanismos de degradação dos poliuretanos, assim como o efeito de antioxidantes na bioestabilidade. O Santowhite® e o Irganox® são exemplos de antioxidantes sintéticos utilizados em PU's comerciais; no entanto, para aplicações biomédicas testaram um antioxidante natural, a vitamina E, em elastómeros de poli (éter-uretano-ureia) (PEUU) *in vivo*. A forma biologicamente mais activa da vitamina E é o α -tocopherol, descrito como o antioxidante lipossolúvel mais eficiente da natureza, solúvel também nos PEUU's. Os seus produtos de degradação são conhecidos e não tóxicos. Este antioxidante foi adicionado ao PEUU em 5% em massa, sendo os materiais testados em implantes *in vivo*. Após 10 semanas de implantação, nos

PU's com vitamina E ainda restavam 82% de grupos éter enquanto que nos implantes só de PU's apenas restavam 18% destes grupos, o que daria uma taxa de degradação para o PU estabilizado de 3.6%/semana, contra 6.6%/semana do PU não estabilizado. Os resultados motivaram um estudo comparativo entre a vitamina E e o Santowhite®. Depois de 15 dias *in vitro* em solução Haber-Weiss, concluíram que no PU não estabilizado ocorreu uma perda dos grupos éter de 75% e a oxidação se deu a uma profundidade de pelo menos 10 micron. Os poliuretanos estabilizados com Santowhite®, PEUU-2,3SW (2,3 meq Kg⁻¹) e tratados com vitamina E PEUU-2,3VE (2,3 meq Kg⁻¹), mostraram por ATR-FTIR conteúdos de 19% e 43%, em grupos éter, respectivamente. Neste ponto de vista, a vitamina E revelou ser um antioxidante mais efectivo que o antioxidante sintético. Quando comparados por idênticas concentrações em peso, ou seja, PEUU-2,3VE (1% massa) e PEUU-5,8SW (1.1% massa), não se verificou uma perda de grupos éter significativa.

Aceita-se actualmente que as espécies de oxigénio activas extraem um átomo de hidrogénio da posição α -metileno dos segmentos moles poliéter. A adição de um radical hidroxilo ao radical carbono forma um hemiacetal, que se oxida num éster. A cisão de cadeia do segmento mole dá-se por hidrólise ácida deste éster, originando grupos terminais ácido. Uma pequena porção dos radicais de cadeia combina com outros radicais de cadeia, resultando numa reticulação. À semelhança dos PEU's, os radicais oxigénio extraem também um átomo de hidrogénio da posição α -metileno dos segmentos moles policarbonato. A combinação de radicais de cadeia com radicais hidroxilo dá origem a um hemiacetal, que se oxida num éster. A hidrólise ácida deste resulta na cisão de cadeias moles, com formação de um álcool e grupos terminais aldeído, e subsequente reticulação. A degradação de segmentos duros dá-se pela extracção de um átomo de hidrogénio da posição α -metileno do extensor de cadeia no uretano, pelos radicais oxigénio. Os radicais hidroxilo combinam-se com os radicais de cadeia para formar um carbonil-hemiacetal extremamente reactivo. A hidrólise deste composto resulta na cisão de cadeia com formação de um ácido carbâmico instável e grupos carboxilo terminais. O ácido carbâmico descarboxila para formar uma amida livre. As análises espectrais revelaram a cisão preferencial das cadeias duras livres, comparativamente com as ligadas entre si por hidrogénio nos domínios duros. Estas últimas não se degradaram, devido à estrutura cristalina dos domínios duros onde se encontram inseridas. Os segmentos duros expostos nos domínios amorfos/moles, ou na região interfacial, estão vulneráveis ao mecanismo oxidativo [40].

Pela conhecida susceptibilidade dos poli (éter-uretanos) à oxidação, os poli (carbonato-uretanos) (PCU's) têm sido estudados para utilização em implantes de longo prazo.

Elizabeth *et al* descobriram a evidência de degradação superficial em PCU's após terem sido implantados 15 meses em coelhos. Neste estudo usaram um ambiente *in vitro* que simulou o

microambiente na interface célula-material aderente para reproduzir e acelerar a biodegradação dos poli (éter-uretanos) e PCU's. Os polímeros foram testados *in vitro* durante 24 dias em solução de 20% de peróxido hidrogénio/ 0.1 M cloreto de cobalto, a 37°C. Os filmes de PEU revelaram um decréscimo dos grupos funcionais, atribuído à oxidação e cisão da cadeia mole éter e reticulação. Os filmes de PCU revelaram um decréscimo da ligação oxigénio do carbonato. A perda de segmentos moles no PCU foi inferior à do PEU em todos os intervalos de tempo, mas com um decréscimo paralelo entre os dois ao longo do tempo. Foram testados também PEU e PCU com antioxidante (Santowhite 2,2% massa de polímero), sendo a perda dos segmentos moles significativamente menor.

É de salientar que o maior problema do ponto de vista médico está ligado com os produtos de libertação destes PU's em uso clínico, que podem ser carcinogénicos, particularmente a metilenodianilina (MDA). Provavelmente, este composto provém da cisão da ligação uretano, formada com o monómero difenilmetano-diisocianato (MDI), por acção enzimática ou oxidação térmica a elevadas temperaturas.

Haugen *et al* utilizaram a degradação enzimática com colesterol esterase (CE) que é considerada uma das enzimas mais destrutivas presentes no organismo. Entre os produtos de degradação isolados deram especial atenção à MDA, por ser o mais tóxico dos produtos de degradação dos PU's. Foi ainda aplicada uma dose de radiação gama, por estudos anteriores revelarem que aumentaria a bioestabilidade destes polímeros.

Utilizaram 4 amostras diferentes, uma produzida por prensagem a quente e esterilizada com radiação gama de 25 kGy e as outras 3 produzidas por injeção. Duas destas foram esterilizadas com radiação gama de 60 kGy e a última a 25 kGy. Uma das amostras obtidas por injeção e esterilizada com radiação de 60 kGy foi submetida a degradação numa solução com uma concentração enzimática dez vezes superior às anteriores, para imitar uma situação de forte inflamação crónica. Todas as outras foram imersas em soluções enzimáticas imitando a actividade enzimática fisiológica, correspondente a uma reacção inflamatória crónica, durante 28 dias. Os grânulos não irradiados não apresentaram diferenças significativas nos espectros ATR-FTIR comparativamente aos esterilizados com radiação gama. Após 7 dias de incubação a concentração mais baixa de MDA libertada das amostras foi registada nas amostras obtidas por injeção ($0,15 \text{ ng} \pm 0,003$). Esta libertação não aparentou ter nenhuma relação com a aplicação de radiação gama. Como esperado, a libertação máxima deu-se na amostra com uma concentração de enzima dez vezes superior ($7540,0 \text{ ng} \pm 0,004$), revelando que esta enzima é realmente agressiva em poli (éter-uretanos). A concentração de enzima utilizada é fisiologicamente improvável, embora possa

ocorrer em comportamento de inflamação extrema. Os teores de MDA libertados no ensaio não se revelaram prejudiciais tendo em conta os níveis tóxicos referidos na literatura [41].

1.3.5. Efeito do Estado de deformação na bioestabilidade/biodegradação dos PEUUs

Este efeito ainda não está perfeitamente estabelecido; no entanto, alguns testes demonstraram que a degradação seria atrasada através da cristalização induzida por tensão, impedindo o acesso aos segmentos moles. No entanto, é também evidente que tensões e deformações levam à formação de fissuras na superfície degradada do polímero, que podem transferir-se para o interior, causado a sua falha. Para estudarem este tipo de efeito, James *et al* [38], ensaiaram tubos de PU sem estabilizadores sob tensão uniaxial e biaxial com uma solução de 20% peróxido de hidrogénio/0.1M de cloreto de cobalto, durante 12 dias a 37°C. Para os tubos em tensão uniaxial a degradação foi efectivamente inibida, sendo que a quantidade de grupos éter que permaneciam aumentava linearmente com a tensão aplicada.

Nos tubos ensaiados biaxialmente a taxa de degradação não se reduzia para deformações inferiores a 200%. Concluíram que o fenómeno de inibição se atribuía à compactação da fase poliéter devido à orientação, resultando numa permeabilidade inferior, em particular ao oxigénio.

A orientação da fase amorfa dos segmentos moles de poliéter é a precursora de cristalização induzida por tensão. O início da cristalização em tensão uniaxial ocorre a 150% de deformação.

1.3.6. Modificação de superfície

Outra aproximação no sentido de melhorar a bioestabilidade em PU's é a alteração das propriedades químicas de superfície. Christenson *et al* sintetizaram um ácido gordo uretano derivado de dehidroepiandrosterona (DHEA) para utilização como um aditivo, no sentido de aumentar bioestabilidade a longo prazo. A modificação foi idealizada para reduzir a solubilidade da DHEA em água e ancorar fisicamente o aditivo ao poliuretano durante a implantação. A perda de peso do filme de PU em água em função de tempo foi estudada para determinar a retenção de DHEA modificada no polímero. O filme de poliuretano com DHEA não modificada teve uma

perda significativa de peso no primeiro dia (10%), que foi correlacionada com a rápida dissolução do aditivo. A película de poliuretano com DHEA modificada (mDHEA) teve perda de peso menos significativa. O efeito da DHEA modificada na bioestabilidade do poli (éter-uretano-ureia) foi examinado depois de 5 semanas de implantação subcutânea em ratos.

As micrografias ópticas e as análises FTIR indicaram que a DHEA modificada cristalizou à superfície da película, formando uma camada de aproximadamente 10–15 microns de espessura. Não havia nenhuma evidência de degradação do poliuretano por baixo da camada modificada, comparativamente com o controlo de poliuretano sem aditivo. Efectivamente, a camada de mDHEA actua como barreira entre o polímero susceptível e o ambiente oxidativo, impermeável aos radicais oxigénio libertados pelos macrófagos e células gigantes aderentes [39].

Faré *et al* estudaram as propriedades mecânicas e físicoquímicas, citotoxicidade *in vitro*, citocompatibilidade, e adesão de plaquetas num poliuretano de memória de forma de base poliéter e num poliuretano SPU (Pell-2363 2363-80AE de Pellethane) como referência. Os poliuretanos com memória de forma (SMPu) e o SPU mostraram pesos moleculares médios semelhantes e propriedades de superfície diferentes, com hidrofiliidade mais alta para o SMPu. O SMPu não mostrou qualquer efeito citotóxico na adesão e proliferação de fibroblastos. As análises térmicas revelaram que o SMPU tem temperatura de transição vítrea a 53.5°C, o que significa que à temperatura de 37°C o material se encontra rígido, evidenciando o seu comportamento fortemente dependente da temperatura, com alta recuperação de forma. Quando comparado com o SPU mostrou uma mais elevada adsorção de proteínas da matriz extracelular, como fibronectina, fibrinogénio, e colagénio. A adsorção de proteínas sobre o SMPu aumentou significativamente a adesão e proliferação de fibroblastos humano. A interação de SMPu com plaquetas foi estudada em plasma rico em plaquetas. Aderiram menos plaquetas ao SMPu, com variações morfológicas menores que sobre o SPU. A citocompatibilidade e hemocompatibilidade do SMPu, combinadas com as suas propriedades raras de mudança de forma e rigidez, faz com que este material com seja potencialmente vantajoso para uso em *stents* [42].

Contudo, nenhum implante artificial tem propriedades mecânicas, nem regenerativas, equivalentes às do tecido nativo. O osso é exemplo de um material com um balanço bioquímico e mecânico adequado, que resulta da sua estrutura compósita e anisotrópica. Existem alguns materiais compósitos a simular as propriedades do osso, com aproximações sucessivas no sentido de melhorar as suas propriedades. Tem sido dada particular atenção aos sistemas de reforço (composição, forma, distribuição granulométrica) e à optimização das técnicas de processamento como tipo de mistura, moldação por injeção e extrusão. A última tem particular interesse por se conseguirem materiais compósitos com elevadas percentagens de carga e alta homogeneidade.

Desta forma são conseguidos materiais bastante promissores, com características mecânicas que permitem a sua aplicação permanente em locais de carga.

O presente trabalho pretende estudar o processamento de compósitos termoplásticos por extrusão, promovendo propriedades mecânicas aproximadas às do osso cortical. A técnica de processamento (extrusão) foi desenvolvida e otimizada ao longo dos ensaios para se adquirir as propriedades mecânicas desejadas.[43]

O osso apresenta organização hierárquica. Cada escala hierárquica tem características únicas e direcções que influenciam as propriedades anisotrópicas e os processos *in vivo* do tecido. No entanto, a unidade estrutural básica tem um arranjo relativamente simples de duas fases; a matriz com moléculas de colagénio orientadas, reforçada com a fase mineral constituída por partículas cristalinas orientadas segundo o eixo *c*. Assim o propósito deste trabalho foi desenvolver um novo biomaterial que imite os aspectos estruturais do osso humano, particularmente um a que ainda não foi dada a devida atenção, nomeadamente a orientação preferencial de moléculas da matriz, conseguida através do alinhamento concedido pela extrusão [6].

1.4. Referências Bibliográficas

1. Ratner B., H.A., Schoen F., Lemons J., *Biomaterials Science an Introduction to Materials in Medicine*. Elsevier Academic Press, 2004.
2. J. Seixas de Melo, M.J.M., M. Helena Gil, H. D. Burrows, *Química de Polímeros*. Imprensa da Universidade de Coimbra, 2004.
3. Athanasiou K. A., Z.C.L.D.R., Agrawal C. M., Wang X., *Fundamentals of biomechanics intissue engineering of bone*. Tissue Engineering, 2000. **6**: p. 361-381.
4. Julie R. Fuchs, M., Boris A. Nasser, MD, and Joseph P. Vacanti, MD, *Tissue Engineering: A 21st Century Solution to Surgical Reconstruction*. Ann Thorac surg 2001 Society of Thoracic Surgeons, 2001. **72**: p. 577-91.
5. B. Saad, T.D.H., M. Welti, G. K. Uhlschmid, P. Neuenschwander, U. W. Suter, *Development of degradable polyesterurethanes for medical applications: In vitro and in vivo evaluations*. Journal of Biomedical Materials Research, 1997. **36**: p. 65-74.
6. Ryan K. Roeder, M.M.S., Charles H. Turner, *Hydrpxyapatite whiskers provide improved mechanical properties in reinforced polymer composites*. Journal of Biomedical Materials Research, 2003. **67A**: p. 801-812.
7. Katarzyna Gorna, S.G., *Preparation, degradation, and calcification of biodegradable polyurethane foams for bone graft substitutes*. Journal of Biomedical Materials Research, 2003. **67A**: p. 813-827.
8. Masaru Tanaka, T.M., Miho Kwada, Takao Anzai, Yuu Kasori, Toshifumi Shiroya, Kenichi Shimura, Makoto Onishi, Akira Mochizuki, *Blood compatible aspects of poly(2-methoxyethylacrylate) (PMEA)- relationship between protein adsorption and platelet adhesion on PMEA surface*. Biomaterials, 2000. **21**: p. 1471-1481.
9. S.C. Rizzi, D.J.H., A.G.A. Coombes, N. Bock, M. Textor, S. Downes, *Biodegradable polymer/hydroxyapatite composites: Surface analysis and initial attachment of human osteoblasts*. Journal of Biomedical Materials Research, 2001. **55**: p. 475-486.
10. Lee, D.D., Rey, C., Aiolo, *Synthesis of reactive amorphous calcium phosphates*. Patent US, 1997.
11. Jarcho, M., *Clinic Orthopaedics*. 1981. **259**(157).
12. groot, K.d., *Bioceramics in Calcium Phosphate*. CRC Press, Boca Raton, 1983.

13. H. Aoki, K.M.K., M. Ogiso, *Journal of Dental Eng*, 1977. **18**.
14. M. Dard, J.B., H. Liendorfer, H. Wahlig, E. Dingeldein, *Acta Odonto Stomatol*. 1994. **61**(185).
15. Groot, K., *Degradable Ceramics*. In: Williams DF, ed. *Biocompatibility of tissues analogs*. Boca Raton. FL, USA CRC Press, 1985: p. 199-222.
16. E. T. Baran, J.F.M., R. L. Reis, *Starch.chitosan hydrogels prepared by reductive alkylation cross-linking*. *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*, 2004. **15**: p. 759-765.
17. M., B., *Calcium orthophosphates in medicine: from ceramics to calcium phosphate cements*. *Injury*, 2000. **31**(4): p. 37-47.
18. Anka N. Veleva, S.A.K., Stuart L. Cooper, *Oxidative and hydrolytic stability of a novel acrylic termpolymer for biomedical applications*. *Journal of Biomedical Materials Research*, 2005. **74A**: p. 117-123.
19. Ruizun Zhang, P.X.M., *Poly(hydroxyl acids)/hydroxyapatite porous composites for bone tissue engineering. I. Preparation and morphology*. *Journal of Biomedical Materials Research*, 1999. **44**: p. 446-455.
20. Saunders, J.H.F., K. C. , *Polyurethanes: chemistry and technology, part 2*. Technology Interscience: New York, 1962.
21. Szycher, M., *Szycher's Handbook of Polyurethanes* CRC Press New York Washington, 1999.
22. Strong, A.B., *Plastics, Materials and Processing, Second Edition*. Young University, Stephan Helba, 2000.
23. Joanne E. McAbane, J.P.S., Rosalind S. Labow, *Role of protein kinase C in the monocyte-derived macrophage-mediated biodegradation of polycarbonate-based polyurethanes*. *Journal of Biomedical Materials Research*, 2005. **74-A**: p. 1-11.
24. Zdrahala RJ, Z.I., *Biomedical applications of polyurethanes: a review of past promises, present realities, and a vibrant future*. *Biomater Appl*, 1999. **14**(1): p. 67-69.
25. I. Rehman, E.H.A., R. Smith, *In vitro degradation of poly(ester-urethanes) for biomedical applications*. *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*, 1996. **7**: p. 17-20.
26. Gorna, K., Sylvester Gogolewski, *Biodegradable polyurethanes for implants. II. In vitro degradation and calcification of materials from poli (ε-caprolactone)-poly(ethylene oxide) diols and various chain extenders*. *Journal of Biomedical Materials Research*, 2002. **60**: p. 592-606.

27. Gogolewski, S., Proc.SPE Intern.Conf.on Medical Plastics, 1988. **14**.
28. Jian Ying Zhang, E.J.B., Nicholas P. Piesco, Sudha Agarwal, *A new peptide-based urethane polymer: synthesis, biodegradation, and potencial to support cell growth in vitro*. Biomaterials, 2000. **21**: p. 1247-1258.
29. Bonfield W, G.M., Tully AE, Bowman J, Abram J, *Hidroxyapatite reinforced polyethylene-a mechanically compatible implant material for bone replacement*. Biomaterials 1981. **185**(2).
30. M. J. Dalby, W.B., L. Di Silvio, *Enhanced HAPEX topography: Comparison of osteoblast response to established cement*. Journal of Materials Science: Materials in Medicine, 2003. **14**: p. 693-697.
31. M. Wang, R.J., W. Bonfield, *Hydroxyapatite-polyethylene composites for bone substitution: effects of ceramic particle size and morphology*. Biomaterials, 1998. **19**: p. 2357-2366.
32. L. Di Silvio, M.J.D., W. Bonfield, *Osteoblast behaviour on HA/PE composite surfaces with different HA volumes*. Biomaterials, 2002. **23**: p. 101-107.
33. P. T. Ton That, K.E.T., W. Bonfield, *Fatigue characterization of a hydroxyapatite-reinforced polyethylene composite. I. Uniaxial fatigue*. Journal of Biomedical Materials Research, 2000. **51**: p. 453-460.
34. N. Hugo Ladizesky, I.M.W., William Bonfield, *Hydrostatic Extrusion of Polyethylene Filled with Hydroxyapatite*. Polymers for Advanced Technologies, 1997. **8**: p. 496-504.
35. J. Huang, L.D.S., M. Wang, I. Rehman, C. Ohtsuki, W. Bonfield, *Evaluation of in vitro bioactivity and biocompatibility of Bioglass reinforced polyethylene composite*. Journal of Materials Science: Materials in Medicine, 1997. **8**: p. 809-813.
36. Ignatius A, U.K., Wenger K, Richter M, Claes L, Hirst H, *A new composite made of polyurethane and glass ceramic in a loaded implant model: a biomechanical and histological analysis*. Journal of Materials Science: Materials in Medicine, 1997. **8**: p. 753-756.
37. Jaana Rich, J.T., Janne Kylma, Jukka Seppala, Showan N. Nazhat, K. Elizabeth Tanner, *Lactic Acid Based PEU/HA and PEU/BCP Composites: Dynamic Mechanical Characterization of Hydrolysis*. Journal of Biomedical Materials Research, 2002. **63**: p. 346-353.

38. James MA, H.A., Wiggins M., Schubert M, Terry O, John WK, Anshu BM, *Recent Advances in Biomedical Polyurethane Biostability and Biodegradation*. USA Polymer International, 1998. **46**: p. 163-171.
39. Elizabeth M. Christenson, M.J.W., James M. Anderson, Anne Hiltner, *Surface modification of poly(ether urethane urea) with modified dehydroepiandrosterone for improved in vivo biostability*. Journal of Biomedical Materials Research 2005. **73A**: p. 108-115.
40. Elizabeth M. Christenson, J.M.A., Anne Hiltner, *Oxidative mechanisms of poly(carbonate urethane) and Poly(ether urethane) biodegradation: In vivo and in vitro correlations*. Journal of Biomedical Materials Research, 2004. **70A**: p. 245-255.
41. H. Haugen, L.C.G., J. Will, E. Wintermantel, *Biostability of Polyether-Urethane Scaffolds: A Comparison of Two Novel Processing Methods and the Effect of Higher Gamma Irradiation Dose*. Journal of Biomedical Materials Research Part B: Appl Biomater, 2005. **73B**: p. 229-237.
42. Silvia Fare, P.P., A. Motta, A. Cigada, M. Cristina Tanzi, *Synergistic effects of oxidative environments and mechanical stress on vitro stability of polyetherurethanes and polycarbonateurethanes*. Journal of Biomedical Materials Research, 1999. **45**: p. 62-74.
43. Ward M. Bonfield W, L.N., *Partnership in Polymers*. Cambridge Oct, 1996. **44**.

Capítulo 2

Preparação e Caracterização de Compósitos Poliuretano/Hidroxiapatite

2.1. Introdução

2.1.1. *Materiais Compósitos para Implantologia Óssea*

A combinação de cerâmicos bioativos com polímeros serve para melhorar as propriedades mecânicas do compósito e as propriedades de integração óssea do material. Um factor importante é a ligação interfacial entre o enchimento e a matriz. Se a adesão entre as duas fases for pobre, terá consequências negativas nas propriedades mecânicas finais.

Foram desenvolvidos alguns compósitos com misturas de agentes de ligação com base diisocianato para ligar PEG [poli (etilenoglicol)] e PBT [poli (tereftalato-butileno)], a HA. A utilização destas partículas de HA modificadas melhora significativamente a ligação à matriz, aumentando o módulo elástico do compósito, comparativamente com o polímero reforçado com HA não modificada [1].

Foram desenvolvidas também outras técnicas de processamento para alcançar melhor adesão entre a matriz e o enchimento. Ignjatovic *et al* testaram a prensagem de misturas de PLLA/HA, fazendo variar as percentagens relativas entre matriz e enchimento, com conformação a diferentes pressões e temperaturas. Observaram que a resistência máxima à compressão era atingida com materiais contendo 15% em peso de PLLA. Verificou também que, em misturas com 20% em peso de PLLA (fazendo uma aproximação à composição do osso, pois 20% em peso de PLLA corresponde a 60% em volume de HA), à medida que aumentava a pressão e temperatura de processamento, também as propriedades mecânicas do compósito eram melhoradas. Com o aumento da temperatura diminuía a viscosidade do PLLA, aumentando a molhabilidade das partículas de HA. A baixa viscosidade do polímero, associada a elevadas pressões, levou ao abaixamento da porosidade, garantindo que todas as partículas são envolvidas pela matriz [2].

Foram também estudadas novas formas de materiais como a associação de partículas de HA a espumas de PLLA altamente porosas, com o objectivo de induzir osteocondutividade em *scaffolds* para aplicações em engenharia do tecido ósseo. Um dos pontos de maior interesse revelou ser o grau de hidratação da espuma que, após incubação em SBF, depositava tendencialmente HA carbonatada no material, à medida que aumentava a concentração em grupos COOH e OH à superfície do polímero, funcionando como nucleadores de apatite [3].

Existiram também grandes avanços nos substitutos ósseos injectáveis e cimentos ósseos. As formulações destes são particularmente interessantes, pelo facto de serem introduzidos no organismo com formas cirúrgicas minimamente invasivas, moldando-se exactamente ao tipo de defeito ósseo a reparar. Estas matrizes são compostas por vários tipos de materiais, sendo a metilhidroxipropilcelulose (MHPC) uma das mais estudadas, com bons resultados ao nível da biocompatibilidade e bioactividade, quando associada a grânulos de DCP. Alguns autores descobriram que, ao diminuir-se os tamanho de grão do enchimento, era induzida uma maior resposta inflamatória, promovendo a migração de macrófagos para o local do implante. Na sequência desta reacção a degradação do biomaterial é substancialmente acelerada [4, 5].

2.1.2. Extrusão

Um dos problemas que se tem verificado na obtenção de materiais compósitos para utilização como biomateriais é a heterogeneidade de dispersão do enchimento na matriz. No sentido de se eliminar este problema, desenvolveu-se uma mini extrusora especificamente para a extrusão de misturas compósitas PU/Cerâmico. Esta máquina foi criada a partir de um motor eléctrico com variação de velocidade de rotação, acoplado a um redutor no sentido de aumentar o binário produzido pelo motor, com as características abaixo indicadas:

O parafuso foi desenvolvido com uma relação de compressão de 1,57 como abaixo indicado:

$$R = \frac{\varnothing_{\text{int}F}}{\varnothing_{\text{int}I}} \Leftrightarrow R = \frac{11}{7} = 1,57 \quad (2.1)$$

Onde;

R = Razão de compressão.

$\varnothing_{\text{int}F}$ = Diâmetro interno do parafuso (à saída).

$\varnothing_{\text{int}I}$ = Diâmetro interno do parafuso (à entrada).

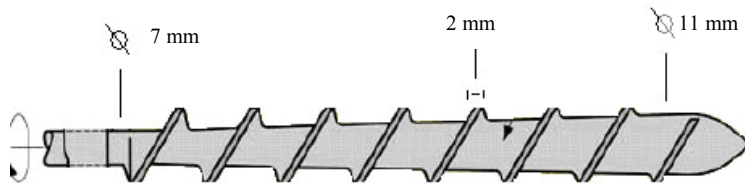


Figura 2.1. – Representação esquemática do parafuso utilizado na extrusão dos materiais.

Este parafuso exerce o transporte de material através de arraste, criado por acção de rotação. O cilindro é aquecido por resistências eléctricas com três zonas independentes de medição e controlo de temperatura; zona 1 (entrada de material); zona 2 (meio do cilindro) e zona 3 (saída de material). Este dispositivo permite a aplicação de perfis de temperatura adequados aos materiais a extrudir.

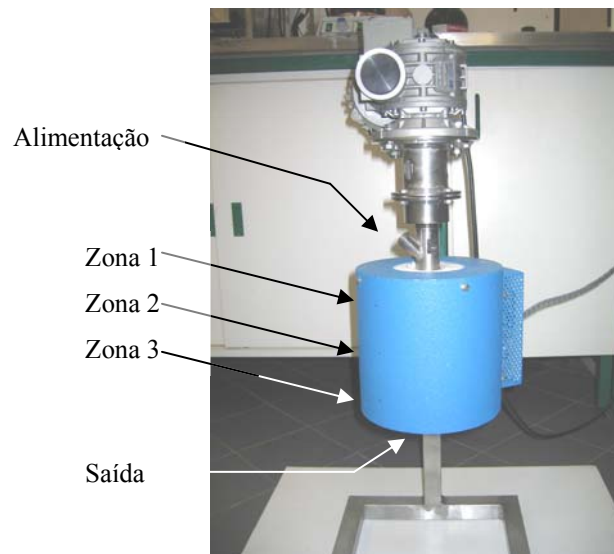


Figura 2.2. –Mini extrusora com três zonas de controlo de temperatura independentes.

2.2. Procedimento Experimental

A preparação de materiais compósitos PU/HA envolve fundamentalmente as seguintes etapas: (i) síntese dos PU's de base poliéster e poliéter, (ii) moagem dos polímeros a uma granulometria $\leq 0,4\text{mm}$, (iii) extrusão de mistura polímero/HA.

A figura 2.3 representa o fluxograma de preparação dos materiais.

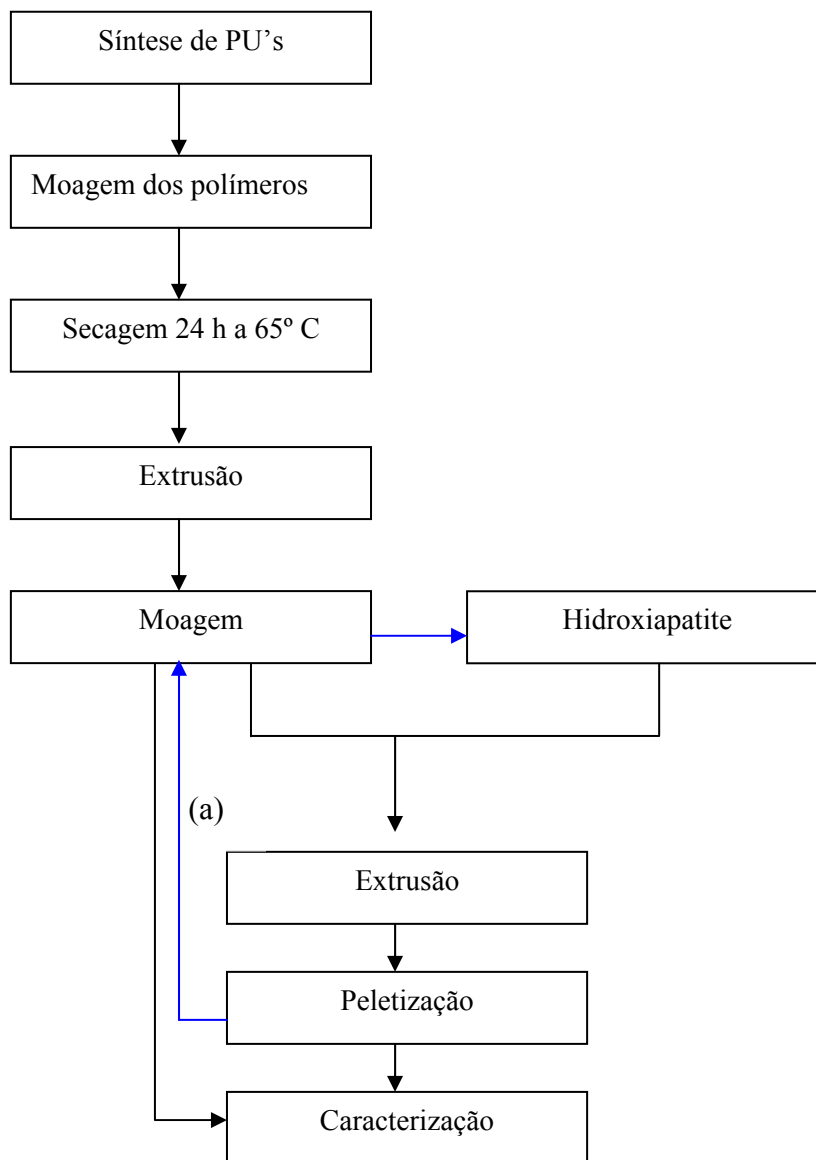


Figura 2.3. – Fluxograma da preparação dos compósitos.

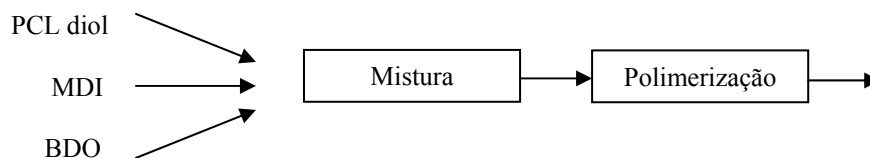
(a) – via utilizada para aumentar a percentagem de carga no compósito.

2.2.1. Síntese dos Poliuretanos

Os elastômeros de PU podem ser preparados segundo dois métodos. O mais simples envolve a mistura de um diol líquido (poliol) e um diisocianato, vertendo-se a mistura num molde enquanto se encontra líquida. A cura desta mistura irá produzir um material elastomérico. Na obtenção de um elastômero termoplástico, os reagentes devem ser escolhidos de forma a produzirem uma estrutura linear. Este processo é denominado por *one-shot*.

O segundo método envolve a reacção de um polímero, terminado em grupos hidroxil, com excesso de diisocianato, para formar um polímero terminado em isocianato (pré-polímero). Este apresenta-se sob a forma de um líquido bastante viscoso ou sólido com baixo ponto de fusão. O passo seguinte resume-se à extensão da cadeia e reticulação com um poliol de baixo peso molecular. A figura 2.4 representa esquematicamente os dois métodos de polimerização. A equação 2.2. exemplifica as reacções envolvidas na síntese de um poli (éster-uretano).

Método *One-Shot*



Método de Pré-polímero

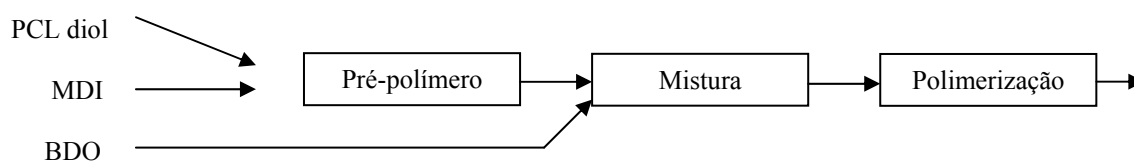
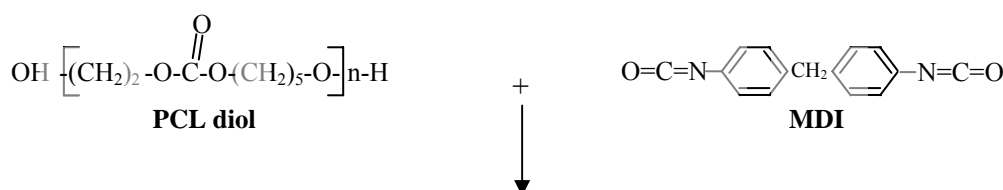
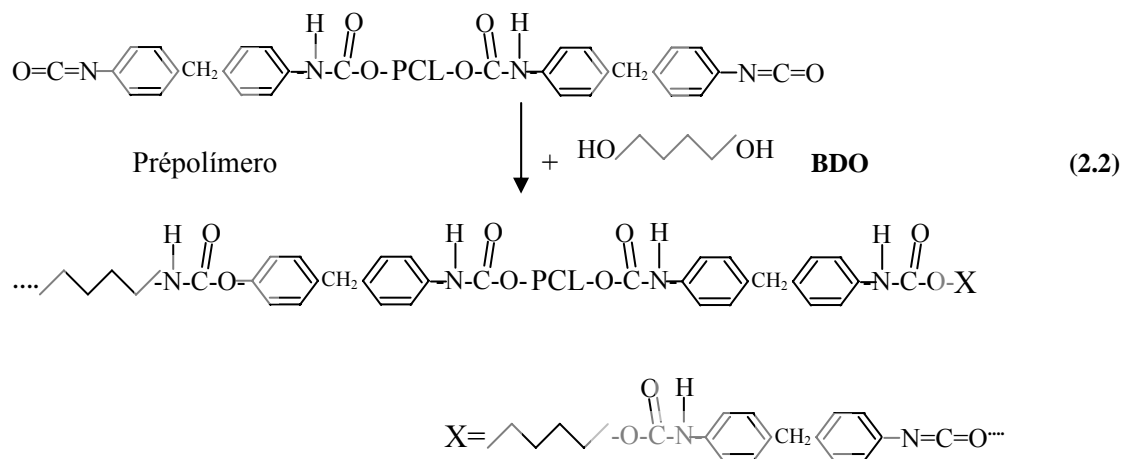


Figura 2.4. – Métodos de polimerização por pré-polímero e *one-shot*.





Os polímeros utilizados neste trabalho foram sintetizados seguindo o método de pré-polímero. Na preparação dos PU's utilizaram-se os seguintes reagentes base para a reacção de polimerização: um isocianato (4-metilenobis-diisocianato, MDI, Sigma-Aldrich), dois tipos de polioli (poli ϵ -caprolactona-dioli, PCL, Sigma Aldrich, utilizada na obtenção de PU's com base éster e politetraóxido de metileno, PTMO, Sigma Aldrich, utilizado na síntese de PU's de base éter). Para a extensão de cadeia utilizou-se o 1,4 butanodiol (BDO, Sigma Aldrich).

Para a síntese do PU1 colocou-se 34 g de PCL-dioli (0,017 mol, 2000 g/mol,) num reactor com 4 entradas com agitação, imerso em óleo a uma temperatura de 75° C, sob atmosfera de azoto, durante 24 h, para garantir a saída de água residual, evitando reacções laterais. À temperatura referida o polioli apresenta-se como um liquido viscoso. Seguidamente, adicionou-se 9,19 g de MDI (0,036 mol, 250 g/mol) em excesso. A mistura foi deixada em reacção por um período de 3 h levando á formação de um pré-polímero com excesso de isocianato. A extensão deste pré-polímero foi efectuada por adição de 1,62 g de BDO (0,018 mol, 90 g/mol) fornecendo cerca de 50% dos grupos OH necessários à reacção com os grupos isocianato em excesso. A relação entre grupos isocianato e hidroxilo (NCO/OH) utilizada foi de 1,05. Neste ponto o polímero adquire uma viscosidade tal que impossibilita a posterior agitação. A reacção deixou-se em cura 24 h a uma temperatura de 75° C. Os restantes polímeros obtiveram-se seguindo o procedimento acima descrito, com as razões molares indicadas na tabela 2.1.

Tabela 2.1. – Resumo das composições utilizadas na síntese dos diferentes PU's.

Reagentes					
Polímero	PCL (mol)		PTMO (mol)		BHA (%Peso)
	M_w2000	M_w1250	M_w2000	M_w650	
PU1	0,017				
PU2		0,017			
PU3			0,017		
PU4			0,017		3
PU5				0,052	0,1

Os polímeros obtidos foram posteriormente retirados do reator, moídos num moinho Retsh ZM 200, com rotor de 12 lâminas a uma velocidade de 16000 rpm, e extrudidos na mini extrusora. Colocaram-se os PU's sob forma de grânulos ($\leq 0,5\text{mm}$) num recipiente, guardado em exsiccador até posterior utilização.

Tabela 2.2. – Perfis de temperatura utilizados nos diferentes PU's.

Perfil de Temperaturas (°C)		
PU1	Entrada	100
	Centro	185
	Saída	172
PU2	Entrada	100
	Centro	180
	Saída	205
PU3	Entrada	100
	Centro	180
	Saída	200
PU4	Entrada	100
	Centro	180
	Saída	195
PU5	Entrada	100
	Centro	190
	Saída	210

2.2.2. Preparação de compósitos

A HA utilizada (Plasma Biotol, sintered grade) foi previamente seca numa estufa a 80° C durante 24 h e passada num peneiro com abertura de malha de 30 µm. Após pesagem do PU e HA, fez-se a mistura dos dois componentes numa tina de vidro, homogeneizando-se com uma espátula até deixar de se observar pós de HA isolados. A mistura foi extrudida a uma velocidade de rotação do parafuso entre 25-35 rpm, tomando por base os perfis de temperatura previamente determinados para cada material, indicados na tabela 2.2. e acrescidos de 10° C.

Na extrusão dos materiais utilizaram-se percentagens mássicas de cerâmico com variações desde 30 % a 70% do peso da mistura, como se descreve na Tabela 2.3.

Após extrusão, os materiais foram cortados em pequenos *pellets* (~3mm) e armazenados num exicador até posterior caracterização.

Tabela 2.3. –Enchimento dos materiais, em percentagem do peso da mistura.

Compósitos	HA (% peso)
PU1 30HA	30
PU1 50HA	50
PU2 30HA	30
PU2 50HA	50
PU3 30HA	30
PU4 30HA	30
PU4 70HA	70
PU5 30HA	30
PU5 70HA	70

2.3. Caracterização dos Poli (éster) e Poli (éter-uretanos)

2.3.1. Microscopia electrónica de Varrimento (SEM)

Os poliuretanos foram caracterizados morfológicamente por microscopia electrónica de varrimento, utilizando um microscópio Hitachi S-4100 com uma energia de feixe de 25 kV. As

amostras foram preparadas da seguinte forma: (i) cortou-se pequenos espécimes a partir de provetes cilíndricos extrudidos e poliram-se numa Struers Rotapol II; (ii) fracturou-se os espécimes utilizando azoto líquido para observação da zona de fractura. Estes espécimes foram fixados em porta-amostras de alumínio com cola de carbono e revestidos com carbono num evaporador Emitech K950.

2.3.2. Microscopia de Força Atómica (AFM)

A caracterização morfológica incluiu microscopia de força atómica num microscópio Digital Instruments com um controlador NanoScope III, usando *cantilever* com ponta de Antimónio (n) dopado com Si com menos de 10 nm de raio.

A preparação das amostras para esta técnica envolveu prensagem a quente (155° C durante 10 min), de pequenos discos ($\varnothing=5$ cm) a partir de espécimes extrudidos, garantindo-se desta forma a paralelidade das superfícies. As amostras foram fixadas aos suportes com fita-cola de dupla face.

2.3.3. Calorimetria Diferencial de Varrimento (DSC)

Para a determinação das transições térmicas dos polímeros recorreu-se à calorimetria diferencial de varrimento num espectrómetro Shimadzu DSC 60. As amostras foram arrefecidas com azoto líquido até - 60° C e os ensaios decorreram a taxas de aquecimento de 10 e 20° C/min até 250° C.

O peso das amostras variou entre 9 e 20 mg. A escala de temperaturas foi calibrada com padrão de índio. Este apresenta uma temperatura de fusão de 156.6° C. As temperaturas de transição vítrea foram determinadas pela intercepção das tangentes à curva na região.

2.3.4. Espectroscopia de Infravermelho com Reflectância Total Atenuada (ATR-FTIR)

A espectroscopia de infra vermelho foi usada para identificação de grupos funcionais dos polímeros. Utilizou-se a reflectância total atenuada, apropriada para este tipo de materiais. As amostras foram colocadas numa célula de germânio sem qualquer tratamento prévio. Os espectros de FTIR foram obtidos num espectrómetro Shimadzu IR prestige-21, no intervalo de

4000 a 400 cm^{-1} , com resolução de 2 cm^{-1} . Fizeram-se no mínimo 50 varrimentos para cada amostra.

2.3.5. Reologia

A dependência do comportamento mecânico dinâmico dos polímeros com a temperatura foi investigada num reómetro Reological Instruments StressTech HR Rotational Rheometer de pratos paralelos. Cada amostra foi submetida a um ciclo de prensagem (Moore Hydraulic Press) composto por $6,37 \times 10^5$ Pa durante 1 minuto, alívio da compressão e nova compressão a $5,15 \times 10^6$ Pa durante 10 minutos. Após o ciclo de prensagem a quente, arrefeceu-se o molde, extraiu-se os discos (1mm de espessura, $\varnothing = 2,5\text{mm}$) e retirou-se o excesso de material com uma lâmina.

A temperatura utilizada foi cerca de 10° C acima da temperatura de fusão do material. Os provetes cilíndricos foram rapidamente arrefecidos à temperatura ambiente e armazenados num exsiccador, até aos ensaios.

2.4. Apresentação e Discussão de Resultados

2.4.1. Estudos de Espectroscopia de Infravermelho (ATR-FITR)

2.4.1.1. Poli (éster-uretanos)

Foram sintetizados dois tipos de polímeros com base éster, PU1 e PU2. Teoricamente, o polímero PU1 tem maior peso molecular, resultado do maior tamanho de cadeia PCL utilizada.

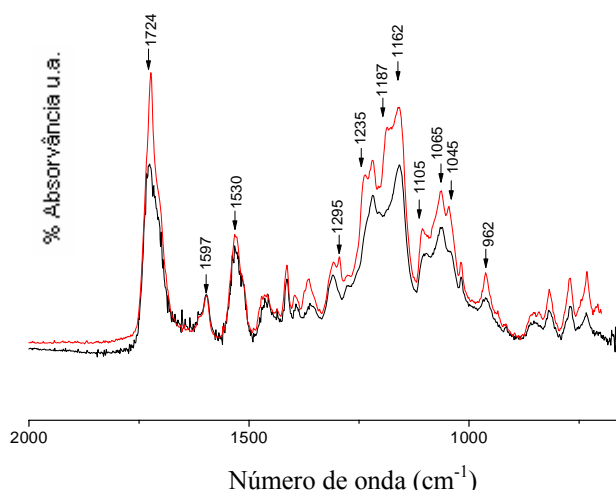


Figura 2.5. Espectro de infravermelho de PU1 com 10 dias (—) e com 65 dias (---).

Na figura 2.5 são comparados dois espectros de infravermelho de PU1 com 10 e 65 dias após síntese. Todos os picos considerados característicos foram normalizados para a banda 1591 cm^{-1} ($\nu\text{C}=\text{C}$ do anel aromático), considerada como referência interna pela sua alta estabilidade [6].

As bandas com elevada intensidade a 1724 e 1700 cm^{-1} correspondem aos grupos carbonilo ($\text{C}=\text{O}$) livres e ligados a pontes de hidrogénio, respectivamente. Estas ligações são feitas entre o átomo de azoto dos grupos uretano e oxigénio do uretano e grupos éster (figura 2.6). Este fenómeno deve-se ao facto de a ligação uretano ($-\text{NH}-\text{CO}-\text{O}$) ter um forte dador de protão (grupo $\text{N}-\text{H}$) assim como grupos carbonilo que funcionam como aceitadores de protão [7].

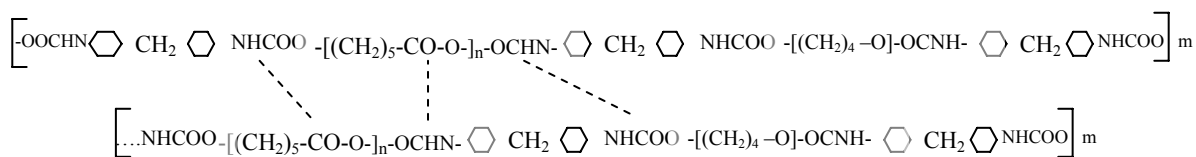


Figura 2.6. - Tipos de ligações por pontes de hidrogénio entre as cadeias de poliuretano.

A 1530 cm^{-1} corresponde a absorção da amida (NH) do uretano, com absorção também a 1223 cm^{-1} [8].

As absorções a 1464 , 1392 e 1360 cm^{-1} manifestam os vários modos vibracionais do grupo CH_2 . Os picos a 1235 , 1162 e 1065 cm^{-1} são atribuídos à vibração por alongamento do grupo éster ($-\text{CO}-\text{O}-$). O alongamento do grupo $\text{C}-\text{O}-\text{C}$ provoca uma absorção na zona 1105 cm^{-1} [9].

No espectro de PU1 com 65 dias observa-se uma maior intensidade na banda 1724 cm^{-1} associada ao C=O livre. Como a técnica ATR analisa apenas a parte mais superficial do polímero, pode estar a assistir-se a um fenómeno de mobilidade intrínseca das cadeias poliméricas, com segregação dos segmentos moles mais à superfície. A redução da banda 1700 cm^{-1} e a maior intensidade das absorções a 1162 , 1065 e 1045 cm^{-1} , indicativas de maior concentração do grupo -CO-O-, reforça esta ideia. Tem sido reportado na literatura que os PU's com segmentos moles de PCL-diol podem sofrer alterações de cristalização durante o armazenamento [10].

Esta tendência pode ser avaliada com mais detalhe na figura 2.7, onde se utilizou a desconvolução dos picos a 1724 e 1700 cm^{-1} através de Gaussianas. O gráfico apresentado relaciona a área correspondente ao C=O ligado a pontes de hidrogénio (A_{1700}) com o C=O livre (A_{1730}). Pode verificar-se um aumento desta relação com evoluir do tempo.

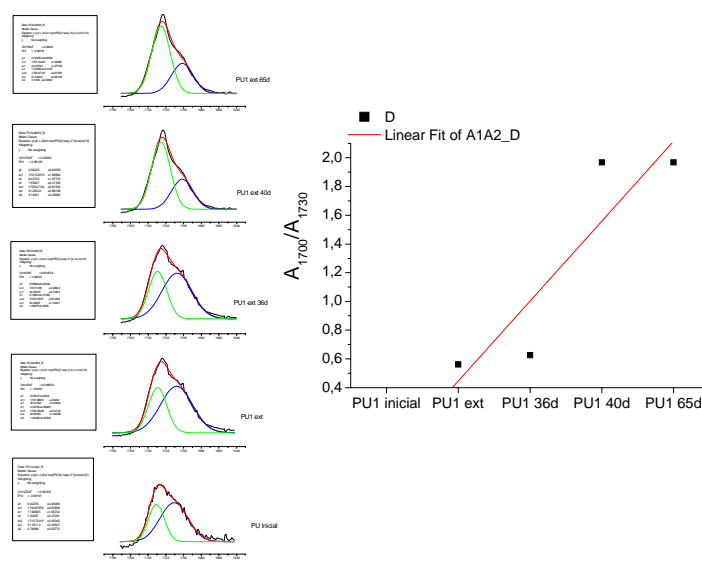


Figura 2.7. - Relação entre as áreas dos picos 1700 cm^{-1} (A2) e 1730 cm^{-1} (A1) para PU1, em diferentes tempos.

A figura 2.8 representa detalhadamente a região de 1400 a 1000 cm^{-1} do polímero PU1 em diferentes fases de tempo. É notório o aparecimento de novos picos a 1295 , 1235 e 1187 cm^{-1} que podem estar associados a grupos CH_2 .

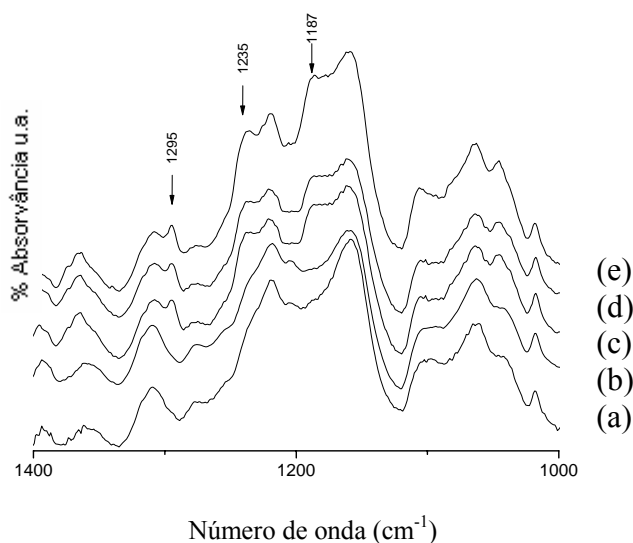


Figura 2.8. – Espectros de infravermelho de PU1 inicial (a), PU1 extrudido (b), PU1 após 36 dias (c), PU1 após 40 dias (d) e PU1 após 65 dias (e).

2.4.1.2. *Influência do tamanho de cadeia de PCL diol nos espectros de FTIR*

A figura 2.9 apresenta os espectros de FTIR dos polímeros PU1 e PU2. A diferença entre os dois está no tamanho de cadeia do poliol utilizado, $M_w 2000$ para o PU1 e $M_w 1250$ para o PU2. O uso de poliois com diferentes pesos moleculares introduz diferenças significativas nos espectros de infravermelho. A maior intensidade da banda 1733 cm^{-1} (grupos C=O livres) indica que, à medida que se aumenta o tamanho de cadeia de PCL, diminui a extensão das ligações de hidrogénio assim como a quantidade de segmentos duros [9].

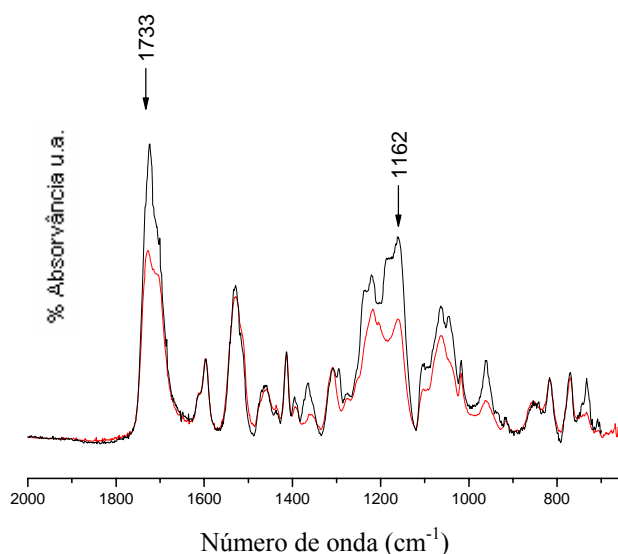


Figura 2.9. – Espectros de infravermelho dos poliuretanos: PU1(—) e PU2 (—), após síntese.

A diminuição do tamanho de cadeia da PCL resulta numa diminuição de intensidade de absorção do pico 1162 cm^{-1} . Esta evidência é indicativa de uma maior concentração de grupos uretano e uma menor concentração de grupos éster, isto é, um maior conteúdo em segmentos duros em PU2.

2.4.1.3. Poli (éter-uretanos)

Foram sintetizados 3 tipos de poli (éter-uretanos) PU3, PU4 e PU5. O tamanho de cadeia do poli(ol) (PTMO) utilizado nos polímeros PU3 e PU4 foi idêntico. Ao PU4 foi adicionado um antioxidante (BHA) para se avaliar o tipo de efeito na bioestabilidade do polímero. Na formulação PU5 fez-se variar o tamanho de cadeia molecular do poli(ol), que foi inferior ao utilizado nos poliuretanos anteriores.

Os picos de FTIR característicos dos poli (éter-uretanos) PU3 e PU4 são comparados na figura 2.10.

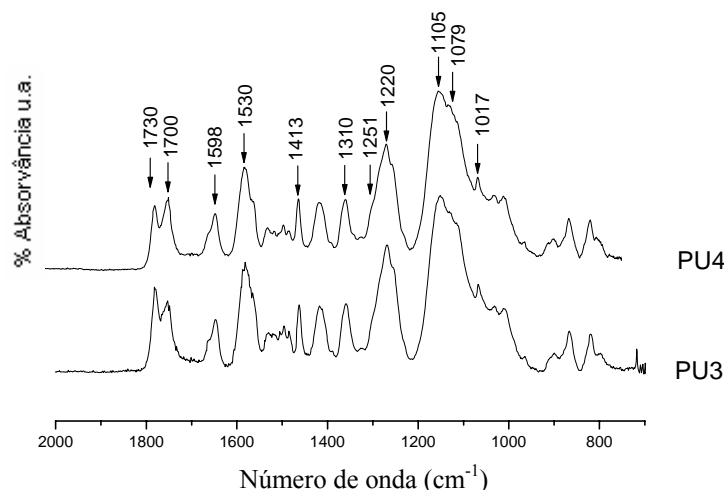


Figura 2.10. – Espectro de infravermelho dos poliuretanos PU3 e PU4.

Não se observa diferenças significativas entre os espectros. Embora o polímero PU4 tenha cerca de 3% em peso de BHA, não se identifica novos picos, provavelmente porque a zona de absorção do BHA se situa entre na gama 1500 1000 cm^{-1} (figura 2.11) que coincide com a maior zona de absorção dos polímeros, acabando por não ter expressão no espectro do polímero.

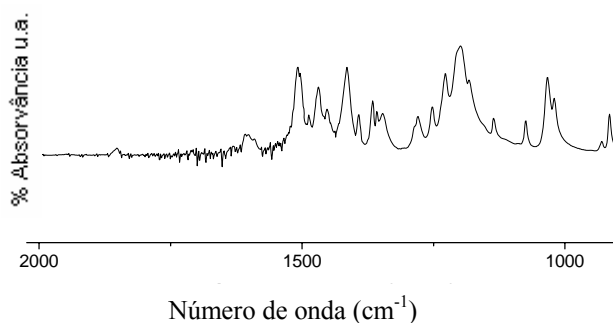


Figura 2.11. – Espectro de infravermelho do BHA.

Existe uma série de bandas de absorção que, à semelhança do observado nos poli (éster-uretanos), aparecem também nos poli (éter-uretanos). Estas absorções situam-se a 1730 e 1700 cm^{-1} e são atribuídas a C=O livres e ligados por pontes de hidrogénio. Outra absorção, situada a 1591 cm^{-1} , corresponde ao alongamento C=C do anel aromático e funciona como referência interna para normalização das restantes bandas [11]. No grupo uretano encontra-se as vibrações C-N e N-H, com absorção a 1530 cm^{-1} e 1310 cm^{-1} .

No anel aromático é possível observar ainda a vibração C-C, que provoca uma absorção a 1413 cm^{-1} , assim como o pico a 1017 cm^{-1} , representativo da vibração C-H. As bandas que indicam a presença de grupos éter situam-se a 1110 e 1079 cm^{-1} , correspondendo ao éter alifático C-O-C e ao éter do grupo uretano (C-O-C=O), respectivamente.

Nesta classe de polímeros assiste-se também a um aumento da relação entre a área do pico correspondente a C=O ligado e C=O livre.

A figura 2.12 representa esta relação com o evoluir do tempo; torna-se evidente que poderá existir uma tendência crescente da proporção de ligações de hidrogénio com o tempo.

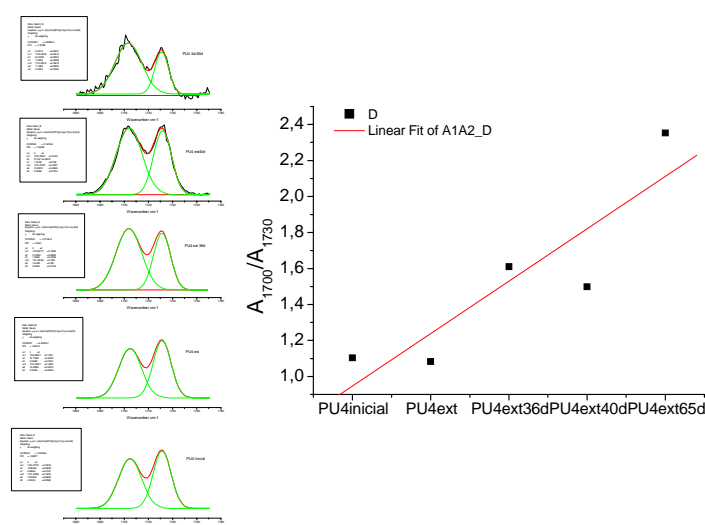


Figura 2.12. - Relação entre as áreas dos picos 1700 cm^{-1} (A2) e 1730 cm^{-1} (A1) para o PU4, em diferentes tempos.

Por análise da gama de 1730 a 1700 cm^{-1} na figura 2.13, identifica-se maior expressão do pico correspondente ao C=O ligado no PU4 para 36 dias. À semelhança dos poli (éster-uretanos), pode estar a assistir-se a uma organização das cadeias no sentido de uma maior concentração de ligações de hidrogénio à superfície.

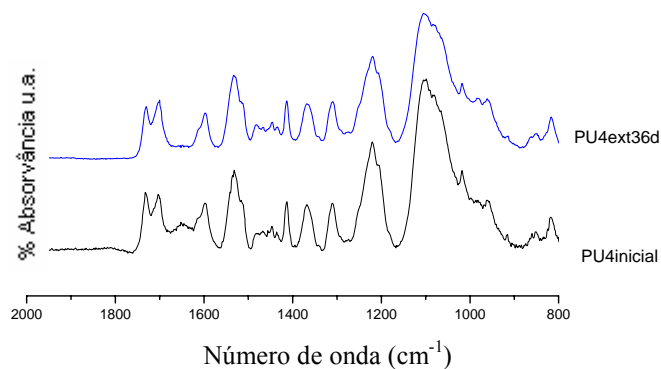


Figura 2.13. – Comparação entre os picos de FTIR do polímero PU4 (—) após síntese e o mesmo polímero após 36 dias (—).

2.4.1.4. Influência do tamanho de cadeia de PTMO nos espectros de FTIR

Quando se compara os polímeros PU3 e PU5 (figura 2.14) identifica-se uma maior intensidade da banda 1700 cm^{-1} no PU3. Da mesma forma, e mais pronunciada, é a banda a 1730 cm^{-1} (C=O ligado por pontes de hidrogénio no uretano) no polímero PU5.

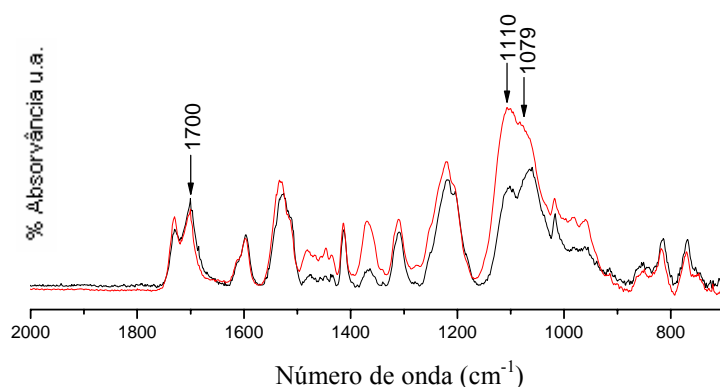


Figura 2.14. – Espectros de infravermelho dos polímeros PU5 (—) e PU3 (—), após síntese.

Esta indicação significa uma maior concentração de segmentos duros no polímero PU5.

Outras bandas significativas encontram-se a 1100 e 1079 cm^{-1} , que, como referido corresponde à absorção do grupo éter (C-O-C). É notória uma maior absorção na banda correspondente ao poliéter nos segmentos moles (1100 cm^{-1}) no polímero PU3, podendo significar que este polímero detém proporcionalmente uma maior concentração dos mesmos. A banda a 1079 cm^{-1} (éter no grupo uretano NC-O-C) é mais intensa no PU5, significando que existem alterações significativas nos espectros de infravermelho quando se utiliza poliois de diferentes pesos moleculares. À medida que diminui o tamanho de cadeia do poliol aumenta a relação da banda 1079 cm^{-1} com a banda a 1100 cm^{-1} , assim como o conteúdo de ligações de hidrogénio e segmentos duros no polímero.

2.4.2. Estudo das propriedades térmicas dos polímeros por DSC

2.4.2.1. Introdução

Com este estudo pretende-se determinar o grau de separação de fases dos materiais.

Os poliuretanos segmentados contendo MDI na cadeia podem resultar em polímeros com estruturas de fases separadas. Esta característica tem sido objecto de estudo por vários autores, pelo facto de influenciar de forma decisiva as propriedades mecânicas destes materiais. Esta morfologia consiste em domínios ricos em segmentos duros ou segmentos moles. Nos PU's segmentados, os segmentos moles contribuem para a elasticidade, enquanto que os segmentos duros contribuem para o módulo elástico e propriedades mecânicas a temperaturas próximas da fusão. Desta forma a relação segmentos moles segmentos duros e, a razão de microfases separadas pode ser ajustada de forma a se conseguir as propriedades mecânicas, físicas ou químicas desejadas [9, 12-14].

Com este estudo pretende-se determinar o grau de separação de fases dos materiais.

A partir da figura 2.15 podem ser observadas as transições térmicas dos polímeros PU1 e PU2. Dentro da escala de temperaturas ensaiada (-70 a 200°C), os materiais exibem 4 pontos que se podem assumir como transições térmicas. O primeiro de -43 a -19°C, o segundo de -5 a -1°C, o terceiro de 25 a 38°C e o quarto de 64 a 66°C.

A temperatura a partir da qual o material passa do estado cristalino a vítreo (temperatura de transição vítrea T_g) foi determinada por intercepção de duas tangentes à curva, no ponto de inflexão da mesma.

As T_g 's que se conseguiu determinar foram -50, -39 e -15 °C para o PU1, PU2 e PU5, respectivamente. Consideraram-se as temperaturas de transição obtidas no segundo varrimento,

pelo facto de alguns autores indicarem esta como sendo a forma mais exacta, porque, ao efectuar-se um segundo varrimento nas amostras se elimina a sua história térmica, diminuindo-se o ruído [9]. Não foi possível determinar as restantes temperaturas de transição em PU3 e PU4 devido à indefinição das respectivas curvas nesta região.

Com base nesta informação verifica-se que T_g aumenta com o aumento do teor em segmentos duros (tabela 2.5.). Nos PU's, a variação na T_g pode estar estreitamente relacionada com a compatibilidade entre fases, na medida em que, elevados graus de mistura entre fases induzem a um aumento de T_g no material [12].

As transições encontradas entre -5 e -1 °C podem dever-se a um certo grau de humidade nas amostras. As temperaturas designadas por T_m , poderão estar associadas à fusão dos segmentos moles dos materiais. Estas endotérmicas são mais pronunciadas e ocorrem a temperaturas mais elevadas nos polímeros que contêm na sua composição, polímeros de maior peso molecular (T_m PU1 > T_m PU2; T_m PU3 > T_m PU5). Apresentando-se mais evidentes estas transições em PU1 (PCL M_w 2000) do que em PU2 (PCL M_w 1250), PU2 apresentará menor grau de separação de fases, ou seja maior mistura entre segmentos duros e segmentos moles.

Quando estas amostras foram arrefecidas após um primeiro varrimento e reaquecidas, estas transições passaram para temperaturas superiores como possível consequência do amolecimento/reorganização de domínios ricos em segmentos duros (T_d).

As inflexões com carácter endotérmico encontradas, aproximadamente, entre 25 e 30 °C têm sido objecto de estudo por parte de vários investigadores. Alguns sugeriram que esta transição se deve a uma distribuição bimodal dos segmentos duros, atribuída a uma transição- β da fase dispersa (Lunardon *et al*). Por sua vez, Frontini *et al*, indicaram que, para se verificar a ideia anterior, 100% do material teria que sofrer esta transição. Para entenderem este processo, avaliaram os materiais, sujeitando-os a vários tratamentos térmicos, e concluíram que a transição em causa corresponde a uma relaxação viscoelástica do material, altamente dependente da sua história térmica.

O aumento de peso molecular do poliálcool utilizado desloca esta transição para uma temperatura superior no caso dos PU's de base poliéster.

No entanto, as transições referidas são pouco evidentes nos polímeros com base poliéter, continuando as explicações a suscitar algumas dúvidas. Os materiais com elevado teor em segmentos duros, assim como grau de mistura de fases (evidenciado pelo aumento de T_g), podem levar à ocorrência de ligações entre segmentos duros e segmentos moles através de pontes de hidrogénio. Esta transição pode então atribuir-se à formação de uma fase intermédia ou a dissociação destas ligações.

Analisando o PU5, que apresenta elevado teor em segmentos duros (48%), esta transição é dificilmente detectada, sugerindo que se trata de uma interação entre o éster e segmentos duros ou segmentos moles. As interações de fases nestes materiais poderão ser mais fracas que em materiais semelhantes de base poliéster, pelo facto de existir um menor potencial de formação de pontes de hidrogénio por parte do grupo éter, comparativamente ao carbonilo no grupo éster. As ligações em causa poderão existir apenas por interação segmento duro/segmento duro [15].

As transições térmicas determinadas a temperaturas acima das anteriormente referidas (T_d) podem estar associadas ao amolecimento de domínios organizados com elevada concentração em segmentos duros.

Os restantes materiais não apresentavam picos definidos nesta região, o que impossibilitou a determinação das temperaturas associadas à transição em causa.

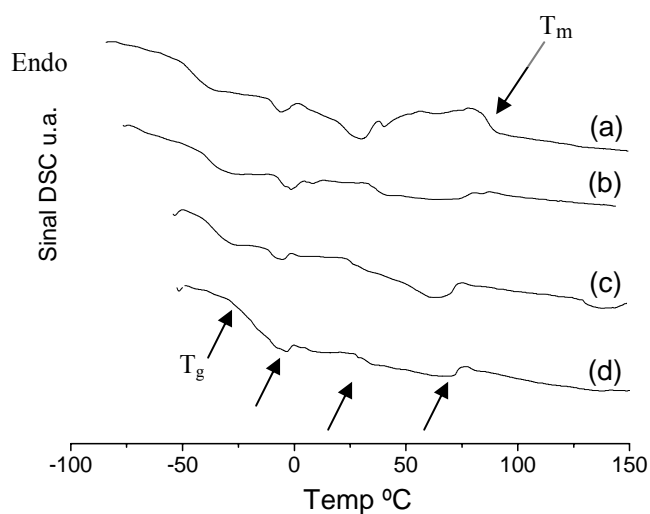


Figura 2.15. – Termogramas de DSC dos poliuretanos: (a) PU1, 1º Ciclo de aquecimento; (b) PU1, 2º Ciclo de aquecimento; (c) PU2, 1º Ciclo; (d) PU2, 2º Ciclo. Taxa de aquecimento: 10º C/min.

Tabela 2.4.- Propriedades térmicas de poliuretanos baseados em PCL e PTMO com diferentes pesos moleculares.

Poliuretano (Tipo Polioli)	Teor Seg. Duros (%)	1º Ciclo			2º Ciclo		
		T _g (°C)	T _{m1} (°C)	T _{d1} (°C)	T _g (°C)	T _{m2} (°C)	T _{d2} (°C)
PU1 (PCL-2000)	24,13	-41	23	86	-50	34	91
PU2 (PCL-1250)	33,80	-28	25	78	-40	27	79
PU3 (PTMO-2000)	24,13	-	47	-	-58	41	-
PU4 (PTMO-2000)	23,41	-	-	-	-	-	-
PU5 (PTMO-650)	48,48	-15	28	94-147	-15	34	96-140

T_m = Transição térmica associada a segmentos moles. T_d = Transição térmica associada a segmentos duros.

2.4.3. Estudos de Microscopia de Força Atômica (AFM)

2.4.3.1. Introdução

As características morfológicas de poliuretanos segmentados têm sido pontualmente investigadas por raios-X de baixo ângulo (SAXS). Existem ainda, alguns estudos com base em microscopia electrónica de transmissão (TEM). Mais recentemente, a microscopia de força atômica provou ser uma importante ferramenta na análise e descoberta da estrutura de microfases separadas a níveis nano.

O modo de varrimento *tapping* ganhou popularidade devido às baixas forças envolvidas, que reduzem as alterações na superfície provocadas pela ponta, ao contrário do modo de contacto.

Esta técnica permite obter informação sobre a altura dos vales e cumes, fornecendo assim uma imagem da topografia da amostra e simultaneamente dureza relativa do local, as últimas denominam-se imagens de fase. Hwang *et al* estudaram segmentos duros sintetizados com MDI e BDO e mostraram que a sua estrutura em solução apresenta a forma de barra. Christenson reportou relações estrutura/propriedades em modelos de poliuretanos com base MDI, BDO e PTMO diol. O mesmo modelo foi também estudado por Eisenbach *et al* que sugeriram a formação de longas cadeias cristalinas no material.

Com o presente estudo pretende-se observar a rugosidade relativa dos diferentes materiais e relacionar o grau de segregação de fases com a composição de cada polímero.

Os polímeros preparados contêm diferentes teores em segmentos duros calculados da seguinte forma:

$$\%SegDuros = \frac{M_{MDI}(g) + M_{BDO}(g)}{M_t} \times 100 \quad (2.3)$$

Em que:

M_{MDI} – Massa de MDI existente no polímero.

M_{BDO} – Massa de BDO existente no polímero.

M_t – Massa total do polímero.

O teor em segmentos duros dos materiais encontra-se na tabela 2.5. Como já mencionado anteriormente, os segmentos duros são constituídos por cadeias de MDI e BDO e os segmentos moles por PCL e PTMO com pesos moleculares de 2000, 1250 e 650 g/mol.

Tabela 2.5. – Teor em segmentos duros da série de polímeros PU.

Polímero	Teor em Segmentos Duros (%)
PU1	24,13
PU2	33,80
PU3	24,13
PU4	23,41
PU5	48,48

2.4.3.2. Procedimento Experimental.

O método de preparação de amostras para observação em AFM envolve a obtenção de um disco de polímero bastante fino, com as faces mais paralelas possível e com uma superfície de contacto perfeitamente lisa.

Devido ao carácter elastomérico destes materiais foi difícil encontrar uma técnica de preparação que levasse à obtenção de boas imagens de AFM. Inicialmente cortou-se pequenos discos com uma lâmina a partir de provetes extrudidos; estes discos posteriormente foram colados ao porta amostras e analisados. Com este tipo de preparação não se conseguiu obter um varrimento completo da área predefinida e as imagens de fase obtidas não mostravam apenas uma superfície homogénea, sem qualquer alteração.

2.4.3.2.1. Preparação de discos por prensagem a quente

Utilizou-se nesta preparação a prensagem a quente de pequenos discos com $\varnothing=8$ mm e 1 mm de espessura.

O molde foi aquecido a 150° C, após o que se introduziu uma pequena quantidade de polímero moído. Colocou-se o molde sob pressão até que arrefecesse, formando assim um disco compacto e com faces paralelas. Com estes discos obteve-se as imagens abaixo representadas.

2.4.3.3. Poli (éster-uretanos)

Por análise da figura 2.16 verifica-se a fractalização da rugosidade da superfície ao variar a ampliação. As imagens A e B são varrimentos de $30\mu\text{m} \times 30\mu\text{m}$ e $2\mu\text{m} \times 2\mu\text{m}$ respectivamente em que o ultimo apresenta uma superfície com relevo mais frequente que o anterior.

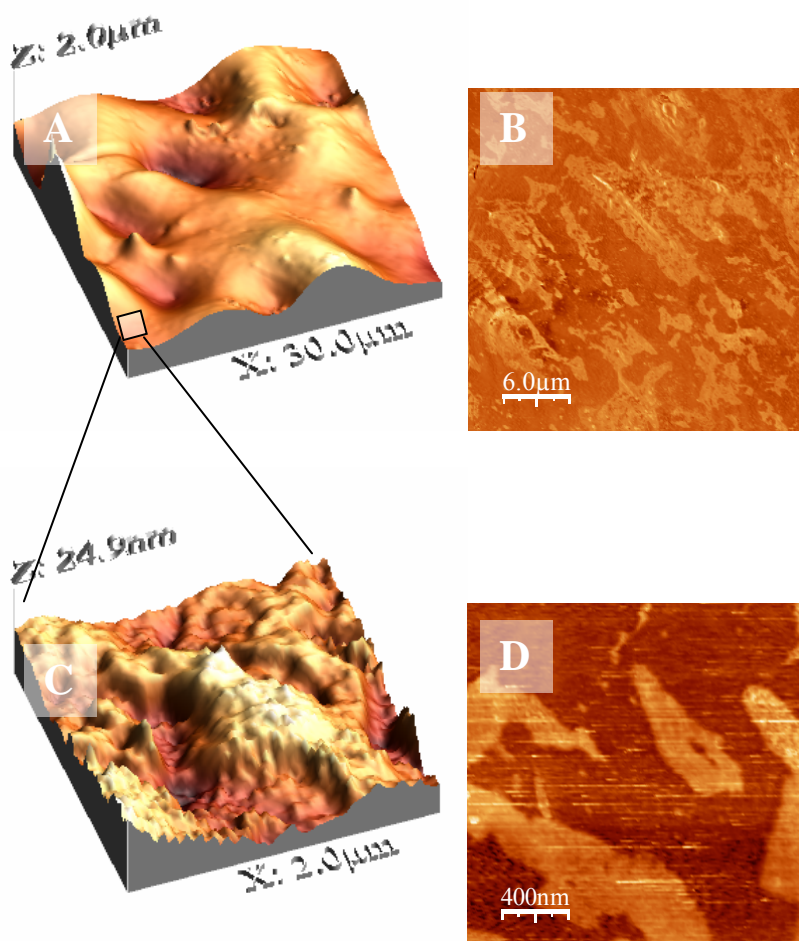


Figura 2.16. – Imagens topográficas (A e C) e fase (B e D) do PU1, a diferentes ampliações.

Em PU2 não se obteve imagens de fase com qualidade suficiente para a análise; apenas a figura 2.17 dá alguma ideia da topografia do polímero.

As imagens B e D representam as fases de PU1, notando-se algumas zonas com tonalidade mais clara. Estas são regiões de maior dureza relativa, correspondendo eventualmente a zonas de maior concentração em segmentos duros. Pode concluir-se que este material apresenta um certo grau de segregação de fases, em que os segmentos duros se agrupam numa matriz com dureza inferior, constituída por segmentos moles.

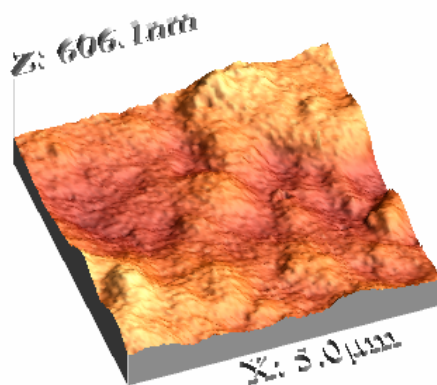


Figura 2.17. – Representação topográfica de PU2 obtida por AFM.

2.4.3.4. Poli (éter-uretanos)

Conforme a figura 2.18 documenta, existem em PU3 zonas com tonalidade mais clara, com uma forma circular e homogeneamente dispersas na matriz, ao contrário do encontrado em PU1, em que estes domínios se apresentam em formas mais compactas. A figura da direita representa um varrimento com maior ampliação em que se consegue detectar um tamanho mínimo destes domínios com cerca de 25 nm de extensão. Este poderá ser o tamanho mínimo destes domínios no polímero.

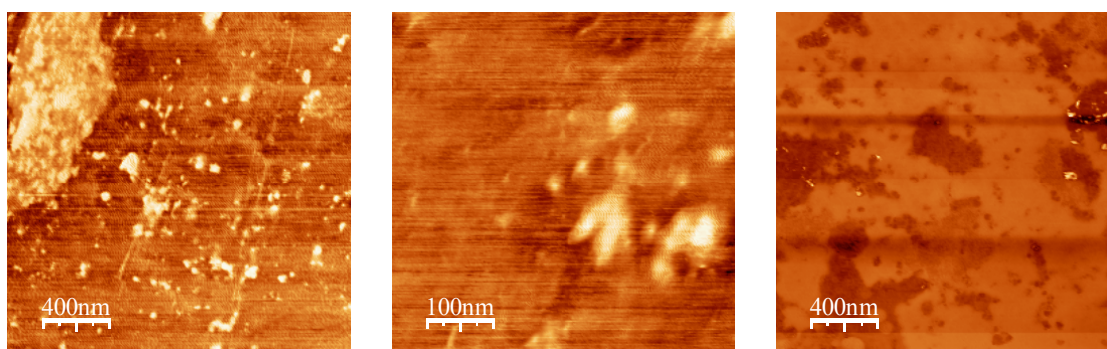


Figura 2.18. – Imagem de fase de AFM de PU3 (2µm * 2µm à esquerda e 500nm*500nm centro) e PU4 (à direita).

A imagem à direita corresponde ao varrimento da amostra PU4, onde se verificam algumas zonas mais escuras dispersas na matriz. Estas são zonas de dureza inferior à matriz do polímero:

não se pode concluir que sejam zonas de segregação de BHA ou zonas de segregação polimérica de dureza inferior.

O polímero PU5 revela, como esperado, uma grande área com tonalidade mais clara, correspondente a zonas com maior dureza. São notadas agregações circulares, à semelhança das observadas no PU3. Os seus tamanhos podem ser avaliados entre 25 e 100 nm.

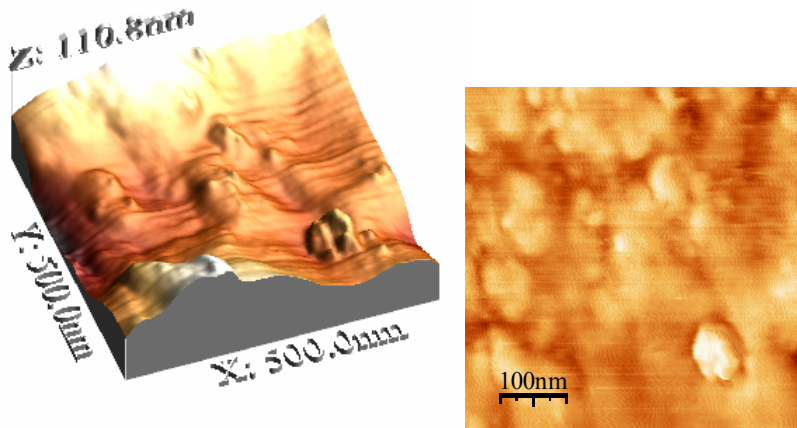


Figura 2.19.-Imagens da topografia e fase do PU5.

2.5. Referencias Bibliográficas

1. Liu Q, d.W., Van blitterswijk, *Composite biomaterials with chemical bonding between hydroxiapatite filler particles and PEG/PBT copolymer matrix*. Journal of Biomedical Materials Research, 1998. **40**: p. 490-497.
2. Ignjatovic. N, T.S., Dakic M, Miljkovic M. Plavsic, Uskokovic D., *Sinthesys and properties of hydroxiapatite/poly-L-lactide composite biomaterials*. Biomaterials, 1999. **20**: p. 809-816.
3. Zhang R. Y., M.P.X., *Porous poly(L-lactic acid)/apatite composites createde by biomimetic process*. Journal of Biomedical Materials Research, 1999. **45**: p. 285-293.
4. Grimandi G., W.P., Millot F., Daculsi G., *In vitro evaluation of a new injectable calcium phosphate material*. Journal of Biomedical Materials Research, 1998. **39**: p. 660-666.
5. Gauthier O., B.J.M., Weiss P., Bosco J., Daculsi G., Aguado E., *Kinetic study of bone ingrowth and ceramic resorption associated with the implantation of different injectable calcium-phosphate bone substitutes*. Journal of Biomedical Materials Research, 1999. **47**: p. 28-35.
6. Mark A. Schubert, M.J.W., James M. Anderson, Anne Hiltner, *Role of oxygen in biodegradation of poly(etherurethaneurea) elastomers*. Journal of Biomedical Materials Research, 1997. **34**: p. 519-530.
7. Szycher, M., *Szycher's Handbook of Polyurethanes* CRC Press New York Washington, 1999.
8. Elizabeth M. Christenson, J.M.A., Anne Hiltner, *Oxidative mechanisms of poly(carbonate urethane) and Poly(ether urethane) biodegradation: In vivo and in vitro correlations*. Journal of Biomedical Materials Research, 2004. **70A**: p. 245-255.
9. Katarzyna Gorna, S.P., Sylvester Gogolewski, *Synthesis and Characterization of Biodegradable Poly(e-caprolactone urethane)s. I. Effect of the Polyol Molecular Weight, Catalyst, and Chain Extender on the Molecular and Physical Characteristics*. Journal of Polymer Science Part A: Polymer Chemistry, 2002. **40**: p. 146-170.
10. Gorna, K., Sylvester Gogolewski, *Biodegradable polyurethanes for implants. II. In vitro degradation and calcification of materials from poli (e-caprolactone)-*

- poly(ethylene oxide) diols and various chain extenders*. Journal of Biomedical Materials Research, 2002. **60**: p. 592-606.
11. Silvia Faré, V.V., Paola Petrini, Edoardo Alessandrini, Gianpero Pietrocola, M. Crisitina Tanzi, Pietro Speziale, Livia Visai, *In vitro interaction of human fibroblasts and platelets with a shape memory polyurethane*. Journal of Biomedical Materials Research, 2005. **73A**: p. 1-11.
 12. Hong Chen, X.J., Llin He, Tao Zhang, Min Xu, Xuehai Yu, *Novel Biocompatible Waterborne Polyurethane Using LLysine as an Extender*. Journal of Applied Polymer Science, 2002. **84**: p. 2474-2480.
 13. Jinjuan Guan, M.S.S., Eric J. Beckman, William R. Wagner *Synthesis, characterization, and cytocompatibility of elastomeric, biodegradable poly(ester-urethane) ureas based on poly(caprolactone) and putrescine*. . Journal of Biomedical Materials Research, 2002. **61**: p. 493-503.
 14. Jian Ying Zhang, E.J.B., Nicholas P. Piesco, Sudha Agarwal, *A new peptide-based urethane polymer: synthesis, biodegradation, and potencial to support cell growth in vitro*. Biomaterials, 2000. **21**: p. 1247-1258.
 15. G. A. Skarja, K.A.W., *Structure-Property relationships of degradable polyurethane elastomers containing an amino acid-based chain extender*. Journal of Applied Polymer Science, 2000: p. 1522-1534.

Capítulo 3

Estudo da Degradação *in vitro* de Poliuretanos

3.1. Introdução

Com o aumento do uso de dispositivos médicos, a compreensão dos mecanismos de biocompatibilidade e bioestabilidade dos materiais utilizados no seu fabrico tem-se revelado de grande importância [1].

Os poliuretanos são bastante utilizados em vários tipos de implantes comercializados, tais como balões intra-aórticos, próteses vasculares, balões gástricos e próteses de menisco. São bastante apropriados neste tipo de aplicações devido às excelentes qualidades físicas e químicas, em combinação com a sua biocompatibilidade. Estas propriedades são originadas pela estrutura de fases separadas que este tipo de polímeros possui. Por alteração, por exemplo, da relação e/ou do tipo de blocos a utilizar pode desenhar-se um espectro variadíssimo de propriedades.

A maioria das aplicações comercializadas que usam poliuretanos são baseadas em polímeros que se pretende bioestáveis; no entanto, um dos principais problemas com estes materiais em dispositivos implantáveis é a sua instabilidade em ambientes biologicamente activos [2]. A estabilidade tende a ser particularmente importante em três áreas: processamento, esterilização e implantação de longo prazo.

Durante o processamento a degradação é fundamentalmente térmica. Na esterilização a degradação poderá ser térmica ou radiológica. No seu estudo, Sheikh N., estudou o efeito da esterilização em filmes de poliuretano com raios gama (25 kGy) não se observando qualquer efeito tóxico, por libertação de produtos de degradação em células de tecido conjuntivo C₃₄ [3]. Em ambiente fisiológico os mecanismos de degradação são a hidrólise e a oxidação. O entendimento da degradação é fundamental, pois pode ser comprometida a biocompatibilidade do material [4].

3.2. Comportamento dos poliuretanos em ambiente fisiológico

Quando uma substância estranha entra em contacto com o organismo, o sistema inicia o seu próprio mecanismo de defesa, que envolve a resposta inflamatória [5]. Pode ocorrer a activação de monócitos e macrófagos, resultando na libertação de agentes hidrolíticos e oxidativos, alguns dos quais são determinantes para a bioestabilidade do material implantado. A degradação de polímeros *in vivo* pode induzir alterações significativas nas propriedades físicas do polímero que, em última instância, podem levar à falha destes materiais. As alterações químicas envolvem cisão de ligações covalentes, reticulação ou formação de ligações iónicas. As alterações físicas incluem inchamento (*swelling*), plastificação, cristalização ou redução de cristalização e fractura por fadiga [6].

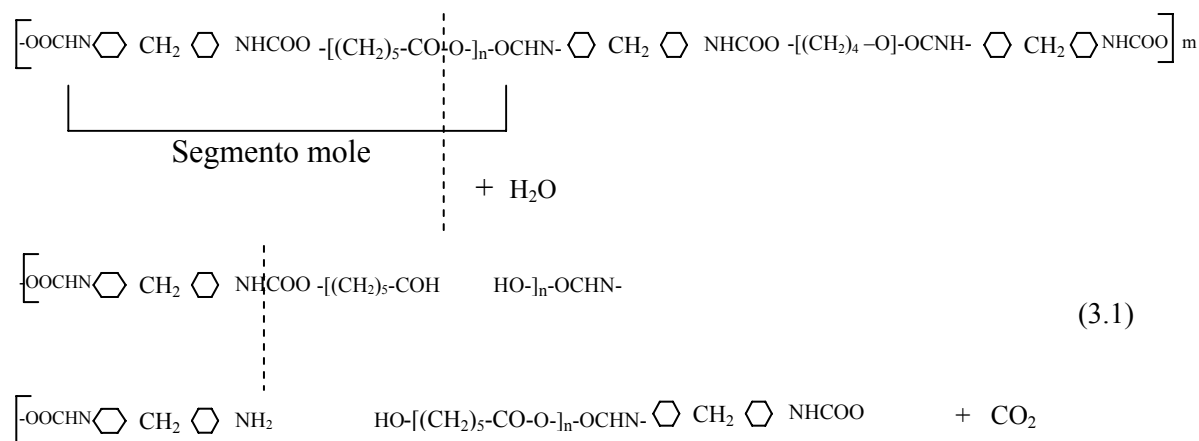
A estabilidade hidrolítica de poli (éter) e poli (éster-uretanos) foi estudada por Scholenberger [7] e Rehaman *et al* [4], que apresentaram a seguinte sequência de degradação hidrolítica:

POLIÉSTER > POLICAPROLACTONA > POLIÉTER.

3.2.1. Poli (éster-uretanos)

Os poli (éster-uretanos) têm já uma larga aplicação em dispositivos médicos. Normalmente são utilizados em situações que requerem um polímero biodegradável, uma vez que o segmento mole é na maioria dos casos um poliéster, que torna o material sensível à cisão hidrolítica, não esquecendo também outro tipo de mecanismos de degradação, como o ataque enzimático.

3.2.1.1. Mecanismo de hidrólise dos poli (éster-uretanos).



Estes polímeros decompõem-se invariavelmente em produtos de degradação tóxicos que põem limitações sérias ao seu uso *in vivo*. ← Por exemplo, uretano produzido a partir de poli (D,L-láctico) diol com MDI hidrolisa *in vivo* em metilenodianilida (MDA), um produto tóxico para o organismo [8].

3.2.2. Poli (éter-uretanos)

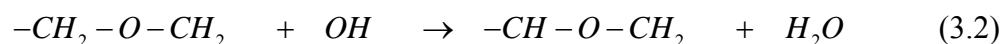
Recentemente, os poli (carbonato-uretanos) (PCU) têm sido bastante estudados por apresentarem excelente bioestabilidade em implantes de longo prazo. No entanto, Christenson *et al* descobriram evidência de degradação superficial de discos de PCU explantados de coelhos após 15 meses *in vivo* [9]. A susceptibilidade à hidrólise é também um factor que compromete a sua utilização a longo prazo [10].

Os poli (éter-uretanos) são mais estáveis; contudo, alguns estudos demonstraram que os segmentos moles de poliéter são susceptíveis de oxidação após largos períodos *in vivo* [11, 12]. Ultimamente têm sido feitos vários estudos de degradação *in vitro* / *in vivo* em poli (éter-uretanos) para aplicações biomédicas. Os mecanismos propostos para a biodegradação são a hidrólise enzimática e a oxidação dos segmentos moles de poliéter [13]. Esta pode desenrolar-se por auto oxidação (AO) oxidação por iões metálicos (OIM) e fissuração por carga em ambiente agressivo (FCA). (i) AO é um fenómeno de fissuração superficial que tem lugar na ausência de carga; (ii) OIM ocorre normalmente quando um componente metálico está em contacto com o PU, como no caso de isoladores de eléctrodos em *pace makers*; (iii) o mecanismo de FCA requer contacto directo com tecido em carga, envolvendo factores biológicos e físico-químicos, e ocorre por erosão de superfície que posteriormente se propaga para o interior, levando à falha

do implante. Os efeitos da oxidação por adesão e activação de células fagocitárias na superfície de PU aumentam o efeito FCA [14].

Uma estratégia utilizada com algum sucesso na prevenção da oxidação destes materiais foi a adição de antioxidantes sintéticos [12]. Contudo, o antioxidante sintético e/ou os seus produtos de degradação podem ser tóxicos ao meio hospedeiro.

Os radicais hidroxilo iniciam a reacção de oxidação ao extraírem um átomo de hidrogénio da posição α -metileno do poliéter:



É sugerido que o mecanismo de cisão ocorre por combinação do radical alquilo do polímero e com um hidroxilo, formando-se um hemiacetal. Os rearranjos deste causam a cisão de cadeias, produzindo grupos aldeído e álcool.

3.3. Procedimento experimental

Todos os polímeros foram moídos, secos em estufa 24h a cerca de 80° C para eliminar humidade e extrudidos na microextrusora a cerca de 30 rpm, com os perfis de temperatura adequados às temperaturas de fusão. Após a obtenção de provetes com $\varnothing=2,5$ mm, foram cortadas pequenas amostras com massas entre 0,08 a 0,1g e mantidas num excicador até próximo uso.

3.3.1. Ensaios de absorção de água (*swelling*)

Este tipo de ensaio foi levado a cabo segundo o método proposto por Skarja e Woodhouse [15]. Antes da pesagem inicial, os *pellets* foram secos numa estufa a 37° C durante 24h para prevenir eventuais erros associados à adsorção de água existente no ar.

De seguida, as amostras pesadas foram colocadas em porta-amostras individuais contendo 15 ml de água desionizada e incubadas a 37,4° C com agitação rotativa (30 rpm) durante 15 dias. As amostras foram retiradas da água a tempos predeterminados, passadas ligeiramente por papel de filtro e pesadas numa balança analítica. Após pesagem, colocaram-se novamente no recipiente individual, continuando-se o processo de degradação. Foram realizadas três réplicas para cada tipo de material.

As alterações de massa resultantes da absorção de água (expressas em percentagem) foram calculadas segundo:

$$\Delta m\% = \frac{(m_t - m_0)}{m_0} \times 100 \quad (3.3)$$

m_0 - massa da amostra seca.

m_t . massa da amostra húmida.

3.3.2. Degradação em tampão de fosfato (*phosphate buffer saline-PBS*)

Para quantificar a biodegradação num meio que simulasse as condições fisiológicas, preparou-se uma solução de PBS com pH=7,4±0,2 (sigma aldrich). Foi preparada outra solução de PBS com pH=5, por adição de pequenas quantidades de uma solução 0,1 M HCl à solução anterior até se atingir o pH desejado. Esta solução teve por objectivo simular a degradação destes materiais em situações inflamatórias avançadas, em que o pH local pode chegar a 4,5.

A ambas as soluções adicionou-se um agente bacteriostático, (azida de sódio) numa concentração de 0,02% m/v.

Após secagem numa estufa a 37°C para garantir a eliminação de humidade, as amostras (em forma de *pellet*) foram pesadas e colocadas em suportes individuais em contacto com 15 ml de solução e incubadas durante 60 dias a uma temperatura de 37° C. Retiraram-se dos recipientes a tempos predeterminados, lavaram-se com água destilada e secaram-se durante 24 h à referida temperatura até próxima pesagem.

A variação de massa foi determinada segundo a equação (3.3).

3.3.3. Degradação acelerada com peróxido de hidrogénio (H₂O₂)

Neste ensaio utilizou-se uma solução de peróxido de hidrogénio (30% v/v). As amostras foram secas 24h a 37°C, pesadas e colocadas em suportes, em contacto com cerca de 15 ml de solução

e incubadas durante 14 dias utilizando os mesmos 37° C. Após extracção dos recipientes, foram secas em estufa (37° C durante 12h) e pesadas para determinação da variação de massa.

Como se sabe de partida que os poli (éter-uretanos) são mais resistentes à hidrólise que os poli (éster-uretanos) adoptou-se uma estratégia de degradação oxidativa acelerada em 14 dias. Estes ensaios serviram para investigar o efeito de soluções extremamente oxidativas na estabilidade dos materiais, com um método fácil rápido e reproduzível.

3.3.4. Degradação acelerada com ácido nítrico (HNO₃)

Para a degradação ácida preparou-se uma solução 0,5 M de ácido nítrico.

Para aumentar a reproduzibilidade dos ensaios cortaram-se espécimes maiores que os utilizados nos ensaios de absorção de água e inchamento, correspondentes a três réplicas. As amostras foram secas numa estufa a 37° C durante 24 h até pesagem. Posteriormente foram colocadas em suportes individuais com 16 ml de ácido e incubadas durante 15 dias à temperatura de 37° C. para a determinação da variação de massa utilizou-se o procedimento acima descrito.

3.4. Resultados e Discussão

A Figura 3.1 mostra a dependência da absorção de água com o tempo. A água é absorvida através de ligações aos denominados *hydrogen-bonding sites* [16]. Admite-se que se formam pequenos aglomerados à volta destas ligações, segundo a seguinte equação:



Por análise da Figura 3.1 pode verificar-se que os poli (éter-uretanos) apresentam maior tendência para absorver água que os poli (éster-uretanos). De uma forma geral, o equilíbrio atinge-se passadas 48 h, ou seja, a quantidade de água absorvida a partir deste ponto não é significativa quando comparada com a absorvida até então.

O poli (éster-uretano) com maior peso molecular (PU2) absorveu maior quantidade de água queo mesmo material com peso molecular superior (PU1): ao fim de 24 h observa-se um aumento de 1% em PU1 enquanto que o PU2 apresenta um ganho de 1,3%.

Ao aumentar-se o tamanho da cadeia polimérica, neste caso por aumento da cadeia de PCL, diminui-se a quantidade de ligações de hidrogénio e, possivelmente, os *hydrogen-bonding sites*, reduzindo-se consequentemente as possibilidades de ligação de moléculas de água ao material. A quantidade de água absorvida e/ou o carácter hidrofóbico dos poli (éster-uretanos) mostra-se assim dependente da composição do material relativamente ao tamanho de cadeia da PCL.

Estes resultados são concordantes com estudos de degradação hidrolítica destes materiais, em que se concluiu que polímeros de composição idêntica mas com menor quantidade de grupos metileno CH₂ (encontrados na PCL) apresentam taxas de degradação hidrolítica superiores [4].

Nos polímeros com base poliéter existe uma tendência inversa à encontrada nos poliésteres relativamente ao factor tamanho da cadeia polimérica. Logo após o primeiro dia de envelhecimento em água ocorre maior absorção em PU3 (2,1%) que em PU5 (1,3%). Pode sugerir-se que a absorção de água nesta classe de polímeros é dependente do tamanho de cadeia de PTMO (grande concentração de grupos hidrofílicos), sendo maior à medida que se aumenta o tamanho de cadeia e, portanto, a percentagem de segmentos moles.

Para dois materiais com composição polimérica semelhante, PU3 e PU4, o diferente comportamento relativamente à capacidade de inchamento terá de ser atribuído ao BHA existente em PU4. Passadas 24 h o polímero apresenta uma absorção de água equivalente a 1,75% da sua massa inicial, diminuindo posteriormente para um mínimo de 1,2%. Este comportamento pode estar associado à passagem de BHA para o meio aquoso ao fim de 24 h.

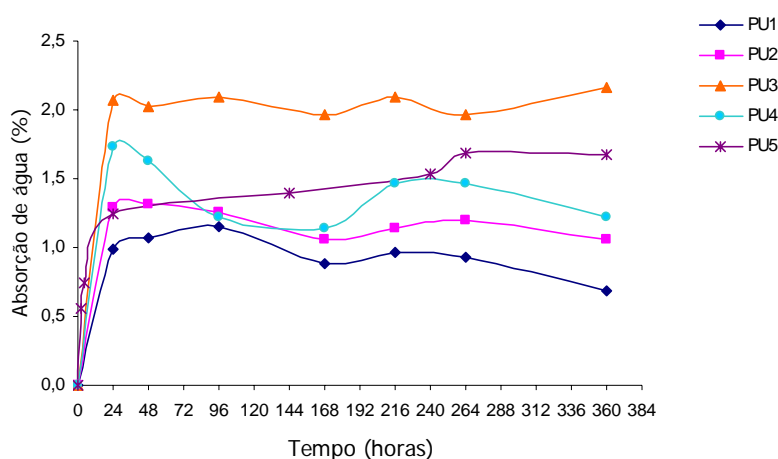


Figura 3.1. – Absorção de água em poli-éster-uretanos (PU1 e PU2) e poli éter-uretanos (PU3-PU5) ao longo do tempo.

As variações de massa dos materiais sujeitos ao envelhecimento *in vitro* em solução de PBS a pH=7,4 e pH=5 podem ser avaliadas na Figura 3.2. Na generalidade, todos os materiais perderam peso nos primeiros 20 dias. As maiores variações são verificadas nos polímeros de base poliéster, em que o material com menor tamanho de cadeia (PU2) apresenta maior degradação, como esperado. No envelhecimento a pH=5 os materiais não evidenciaram alterações significativas de peso após 14 dias, com excepção de PU2. A partir de 14 dias parte do peso perdido é recuperada, sendo este efeito menos notório no ensaio efectuado a pH=5. A maior oscilação a este nível é protagonizada por PU3 a pH=7,4. Como se trata de um material aparentemente com maior grau de hidrofilicidade que os restantes, pode permitir a deposição de sais na sua superfície, provocando este ganho de massa. A pH=5 esta situação pode não ser tão favorável devido à maior solubilidade de sais, como o NaCl. Em relação a PU4, pode verificar-se que o material sofreu perda de peso até aos 63 dias de ensaio (para pH=7,4 e pH=5) podendo-se atribuir este comportamento à libertação de BHA, como referido anteriormente.

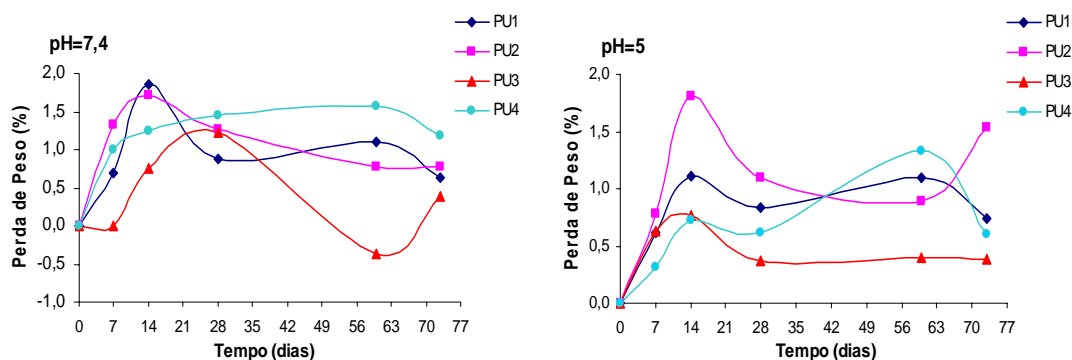


Figura 3.2. – Variações de massa dos polímeros durante o envelhecimento em PBS pH=7,4 e 5.

A figura 3.3 apresenta a degradação dos polímeros em solução fortemente ácida e em meio fortemente oxidante. Existe neste estudo o duplo propósito de desenvolver um método de degradação *in vitro* rápido e de fácil reprodutibilidade, além de comparar a estabilidade dos materiais em condições oxidantes.

De um modo geral, observa-se que os materiais perderam menos peso em ambiente oxidante do que em meio ácido. Verifica-se ainda que os polímeros de base poliéster evidenciam maior grau de degradação (maior perda de peso) que os de base poliéter. Ao final de 14 dias em ácido nítrico PU1 perdeu 2,5% da sua massa inicial e PU2 cerca de 1,8%. Os polímeros PU3 e PU5

(base poliéter) praticamente não sofreram alterações de massa, revelando alta estabilidade no ambiente em causa. É importante ressaltar que, à medida que se aumenta a concentração em segmentos moles por utilização de PCL ou PTMO com maior peso molecular, se verifica uma diminuição da resistência dos materiais à degradação, tanto em ambiente ácido como oxidante. O material PU4 apresenta um comportamento diverso dos restantes poliéteres, possivelmente em consequência da libertação de BHA ao sétimo dia de ensaio em meio ácido o material apresentou uma perda de peso considerável (1,3%). A partir deste ponto a variação de peso foi apenas de 0,6%, seguindo o padrão do polímero base PU3 e ao fim de 14 dias a perda de peso foi inferior às de PU1 e PU2.

O tratamento com peróxido de hidrogénio indica resultados parecidos aos obtidos com ácido nítrico, embora menos pronunciados.

Os PU's poliésteres foram os materiais que apresentaram maior perda de peso em peróxido, embora inferior à experimentada com ácido. Para PU1 a perda de peso atingiu-se, em grande parte, nos primeiros 5 dias, estabilizando praticamente até ao final do tratamento e atingindo um máximo de 0,9% (contra 2,5% em HNO_3). Os materiais PU3 e PU5 sofreram uma pequena alteração de massa, ao contrário do esperado, por serem mais sensíveis à oxidação. O PU4 apresenta-se como o material que ao fim de 14 dias de ensaio apresenta a perda de peso mais acentuada (1,1%). Nesta situação, pode estar a assistir-se não só à degradação/extracção do BHA mas também a contribuição da degradação do polímero, como se pode observar pelo comportamento de PU3.

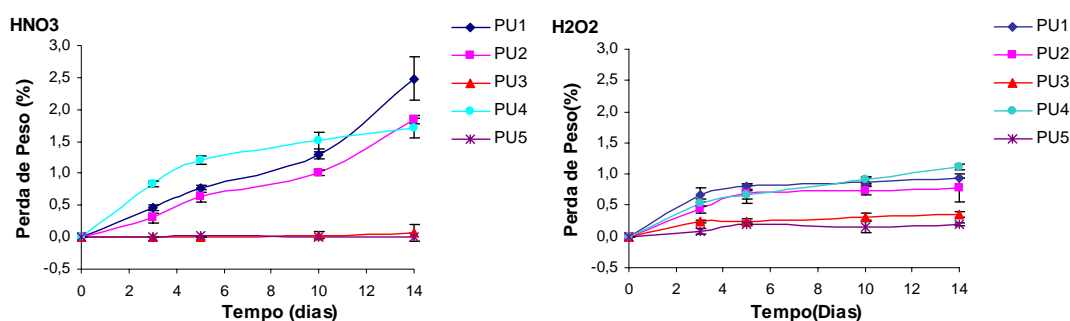
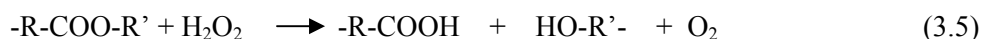


Figura 3.3. – Degradação acelerada *in vitro* de poliuretanos em meio ácido (0,5M HNO_3) e meio oxidativo (30% v/v H_2O_2).

A espectroscopia de infravermelho é particularmente importante na detecção de separação de fases na superfície das amostras de PU, assim como na modificação ou formação de novas ligações químicas resultantes do processo de degradação.

Os poli (éster-uretanos) são degradados através da quebra das ligações éster, resultando numa perda de grupos carbonilo-éster –CO-O-C- [4, 17]. Esta situação não é detectável por análise do pico 1730 cm^{-1} de PU1 [Figura 3.4 (A)], mas pode ser identificada pelo decréscimo de intensidade nos picos centrados a 1295 , 1180 e 1062 cm^{-1} . A perda de intensidade destes picos confirma a hidrólise do PU por rompimento de ligações éster, produzindo duas cadeias mais pequenas e o aparecimento de dois novos grupos, ácido carboxílico e hidroxilo:



Observam-se também alterações entre 1455 a 1365 cm^{-1} , correspondentes aos vários modos vibracionais de CH_2 . As mais evidentes têm a ver com o alargamento da banda a 1395 cm^{-1} . O enlongamento do grupo C-O-C provoca uma absorção na zona 1105 cm^{-1} , a qual sofreu uma pequena diminuição de intensidade após degradação, o que reforça a ideia de que o material é degradado preferencialmente através das ligações existentes nos segmentos moles.

Quanto ao polímero PU2 [Figura 3.4 (B)] já se observam diferenças significativas, com aumento de intensidade na banda 1733 cm^{-1} . Este fenómeno indica aumento dos grupos $-\text{C}=\text{O}$ livres com diminuição das ligações de hidrogénio. À medida que a cadeia vai sofrendo roturas nos segmentos moles o tamanho de cadeia diminui, assistindo-se ao aumento de expressão do pico referido. Neste caso, devido ao menor teor em segmentos moles e consequente mistura de fases, parece estar a assistir-se a uma dissociação entre grupos uretano e segmentos moles, levando a uma separação de fases durante o processo de degradação. As alterações nos picos a 1363 e 1217 cm^{-1} vêm confirmar esta tendência, já que se trata de picos associados a modos vibracionais do grupo CH_2 presente nos segmentos moles.

Após degradação, a região correspondente ao enlongamento $-\text{C}=\text{O}$ (1650 a 1800 cm^{-1}) com dois picos distintos a 1730 e 1700 cm^{-1} no PU2 sem tratamento, passou a existir sob a forma de um só pico com intensidade máxima a 1725 cm^{-1} .

Devido a efeitos de campo de rede e associação, a existência de algum grau de cristalinidade pode levar a uma alteração na banda principal correspondente ao grupo éster, para regiões próximas de 1724 cm^{-1} , em PU's com base PCL diol com pesos moleculares acima de 1250 g/mol [15]. Alguns estudos demonstraram que poliuretanos amorfos podem desenvolver algum

grau de cristalinidade na presença de soluções aquosas de líquidos que permitam ligações de hidrogénio [18]. Existem sinais mais evidentes de degradação no PU2, significando que PU's com comprimento de cadeia inferior são mais susceptíveis de degradação.

É assumido por vários autores que a degradação nos Poli (éter-uretanos), pode ser identificada pela diminuição do índice éter ($A_{1110\text{ cm}^{-1}}/A_{1079\text{ cm}^{-1}}$), quociente da área do pico referente ao alongamento do éter alifático (-C-O-C-) pela área do pico de alongamento do éter no uretano (N-C-O-C). Esta alteração está relacionada com o ataque de espécies oxidativas ao éter dos segmentos moles, com cisão de cadeia.

O decréscimo de intensidade da banda do uretano não ligado por pontes de hidrogénio [$\nu(-C=O)$ a 1730 cm^{-1}] pode estar associado à degradação de segmentos duros [12, 14].

Também poderá ser identificada uma nova banda a 1174 cm^{-1} , correspondente a grupos éter “ramificados”, o que indica algum grau de reticulação do material [19].

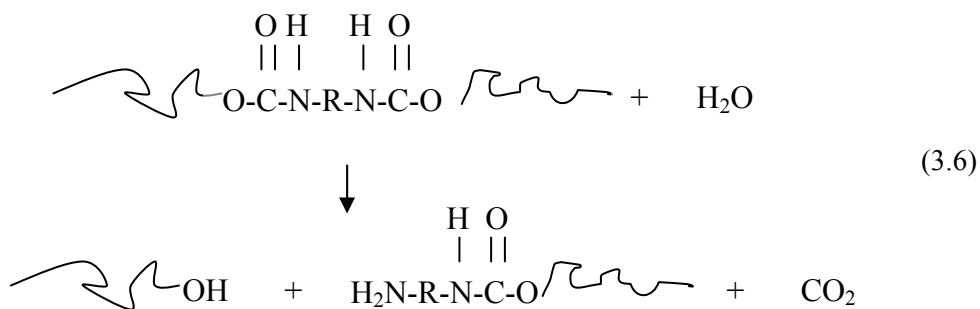
Por observação do espectro correspondente a PU3 [Figura 3.4 (C)] não se identifica a banda a 1174 cm^{-1} que é observada em degradação severa.

Após tratamento com peróxido de hidrogénio, a banda a 1080 cm^{-1} aumentou ligeiramente de intensidade [Figura 3.4, C (i)]. Esta alteração irá produzir um decréscimo no índice éter alifático, indicando algum grau de degradação do material.

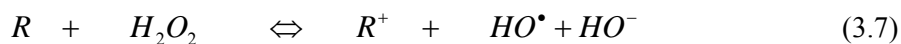
À semelhança do ocorrido com o PU2, e contrariamente ao reportado noutros estudos, verifica-se um aumento de intensidade na banda associada ao carbonilo livre que, como referido indica diminuição das ligações de hidrogénio. À medida que a cadeia vai sofrendo roturas nos segmentos moles o tamanho de cadeia diminui, assistindo-se ao aumento de expressão do referido pico. Como se trata de um polímero com segmentos moles de base poliéter, é provável que a alteração em causa pertença ao carbonilo existente no grupo do uretano.

Tratando-se de um material que passou por um processo de fusão com arrefecimento rápido à superfície durante a extrusão, existe a possibilidade de, no arrefecimento, se concentrarem domínios ricos em segmentos duros, reflectindo um maior índice de ligações por pontes de hidrogénio (1700 cm^{-1}) no material de controlo. À medida que o processo de degradação evolui, esta “micro-camada” irá permitir a exposição de uma região mais concentrada em segmentos moles, detectável por ATR-FTIR.

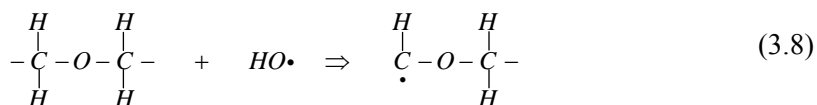
O mecanismo de hidrólise prevê que a cisão se dê ao nível da ligação uretano, com produção de duas cadeias mais pequenas terminadas em grupos amina e hidroxilo [2, 4]:



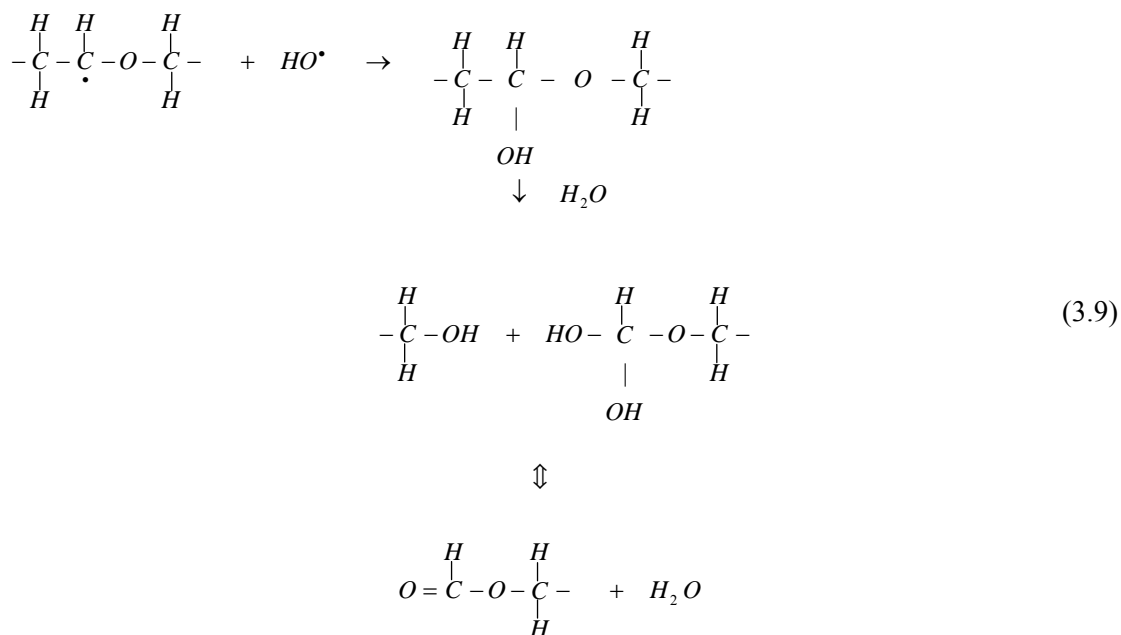
Outro modelo de degradação foi proposto por Shubert *et al.* [12], que prevê a existência de espécies oxidativas, como H_2O_2 , cedendo radicais hidroxilo, espécies extremamente activas com constante de velocidade na ordem de concentração $10^9 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$ [equação (3.7)]:



Esta reacção é catalisada pela presença do ião Co^{++} , não sendo este o caso em estudo. Os radicais iniciam posteriormente a oxidação, por extracção de um átomo de hidrogénio segundo a equação (3.8):



De seguida pode existir cisão de cadeia, por combinação entre o radical alquilo do polímero e outro radical hidroxilo, com formação de hemiacetal [equação(3.9)].



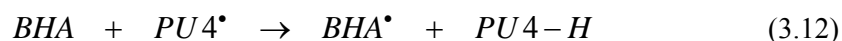
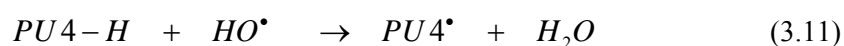
Pode-se reparar que esta última reacção, reversível, apresenta um carbonilo resultante do processo de degradação. Este pode estar a contribuir para o facto de se verificar um aumento na banda 1730 cm^{-1} , contrariamente ao referido por alguns autores. Por outro lado, pode-se observar uma alteração espectral na região carbonilo, isto é, o vale existente entre 1730 e 1700 cm^{-1} desapareceu com o tratamento, podendo estar a forma-se um pico intermédio, podendo resultar no aumento da região em causa, como observado. Esta situação foi também identificada por Shubert *et al*, onde, após degradação certos poli (éter-uretanos) apresentaram esta característica devida á formação de um novo pico a 1716 cm^{-1} , correspondente á absorvância $\nu - C=O$ proveniente do aparecimento de grupos carboxílicos [12]. O mecanismo de degradação proposto prevê a formação destes grupos, assim como de grupos aldeído e álcool. A sua detecção advém da permanência de produtos de degradação de baixo peso molecular na superfície do material, não se difundindo para a solução. Presume-se então que seja este o mecanismo de degradação predominante no material PU3.

As diferenças encontradas nos espectros de infravermelho, após degradação *in vitro* do PU4 podem ser avaliadas por observação da Figura 3.4 (D). Após 5 dias em H_2O_2 , não foi possível a

identificação de alterações químicas por observação do espectros de infravermelho. Teve, deste modo, de se recorrer ao espectro correspondente a 14 dias de imersão em peróxido de hidrogénio. As alterações encontradas são mínimas, com a banda 1730 cm^{-1} a sofrer uma pequena redução de intensidade, pelos motivos referidos anteriormente, e a região correspondente ao éter a ser deslocada no sentido 1103 cm^{-1} . Esta alteração pode ser associada a um provável decréscimo do índice éter característico de degradação. Contrariamente ao observado na perda de massa (Figura 3.3), em que o material apresentou a perda mais significativa ao final de 14 dias de ensaio, as alterações químicas observadas por espectroscopia de infravermelho revelaram que essa perda poderá dever-se à extracção do aditivo BHA. A pequena expressão de bandas associadas a degradação oxidativa do polímero sugere uma protecção de degradação por parte do BHA. Pode colocar-se a hipótese de que as propriedades antioxidantes do BHA preveniram a oxidação do polímero pelo fenómeno de reacção preferencial (*scavenging*) com os radicais produzidos pela espécie oxidante, pelo qual o átomo de hidrogénio activo do antioxidante é extraído pelos radicais livres com maior facilidade. Assim, formam-se espécies inactivas para a reacção em cadeia e um radical inerte procedente do antioxidante.

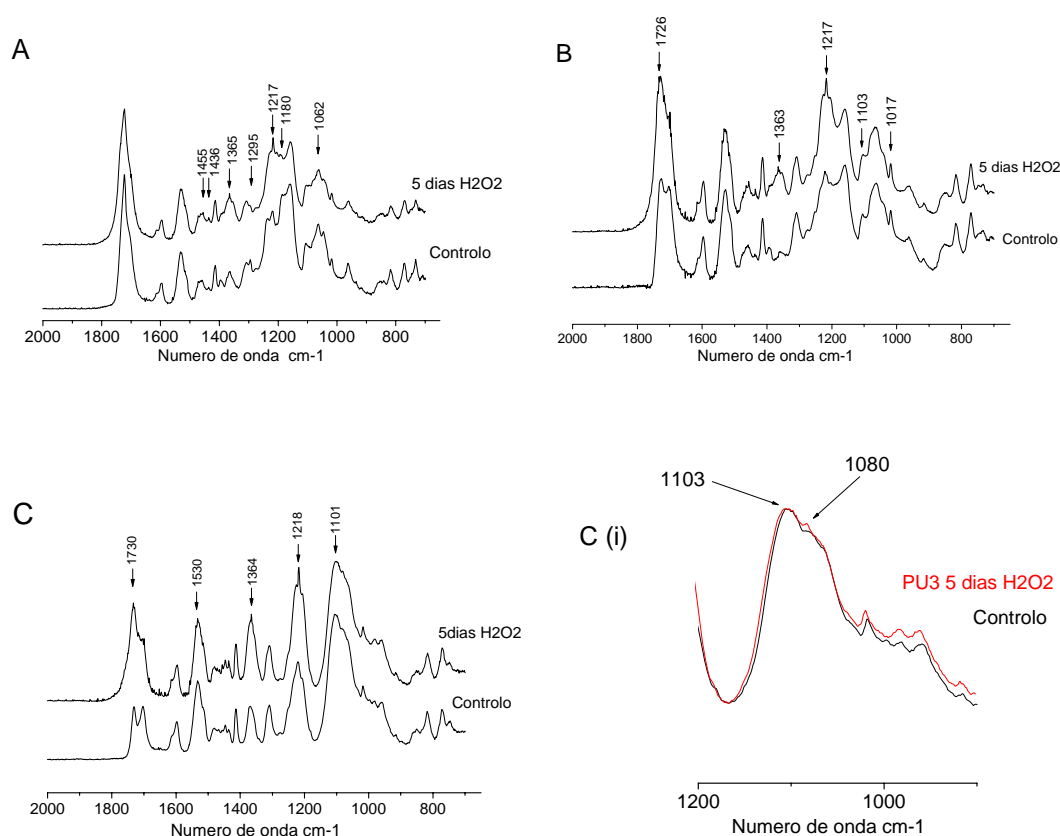


Outro processo de eventual protecção consiste na reacção preferencial com os radicais do polímero ($PU4^{\bullet}$) criados por reacção com os radicais existentes em solução, segundo as equações (3.11) e (3.12):



O radical BHA^{*} criado neste processo pode ser reduzido para formar a molécula original num ciclo redox ou reagir com oxigénio para formar produtos não reactivos [12]. Com base no referido, pode considerar-se que o BHA inibe a oxidação. A quantidade introduzida (3% w/w) é, porém, excessiva, conduzindo a extracção para o meio aquoso, o que se reflecte numa perda de peso no ensaio que poderá não significar a degradação do material propriamente dita. O BHA pode também ter um efeito plastificante, uma vez que este polímero apresenta maior complacência elástica que o material de base (PU3). Esta situação pode ser corrigida com a introdução de menor quantidade de BHA, por forma a manter as funções de antioxidante sem comprometer fortemente as propriedades mecânicas.

Por análise dos resultados obtidos com o polímero PU5 pode verificar-se que se trata do material com menos alterações degradativas, medidas em termos de perda de massa. A quantidade de BHA introduzida não contribui para a perda de massa do material por extracção para o meio oxidativo. Por outro lado, não se pode concluir que a quantidade de BHA introduzida previna de forma significativa o processo de degradação.



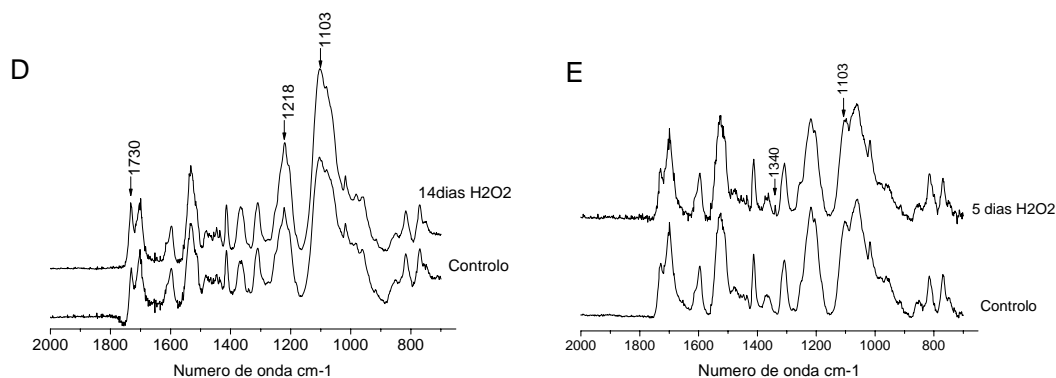


Figura 3.4. - Espectros de FTIR das amostras sujeitas a degradação acelerada em H_2O_2 . Comparação entre o controlo e amostra incubada 5 dias (14 dias no caso de PU4): (A) PU1; (B) PU2; (C) PU3; (D) PU4; (E) PU5.

A degradação em ácido nítrico (Figura 3.5) revela, embora para um tempo mais longo de tratamento, as mesmas alterações químicas que durante o tratamento com H_2O_2 .

Pode-se observar alterações significativas ao nível da banda 1733 cm^{-1} , indicativa de aumento de grupos C=O livres, com o pico a tornar-se único e com desvio para a gama 1700 cm^{-1} . Um vale mais pronunciado pode ser identificado entre os picos 1240 e 1186 cm^{-1} . Mesmo com o material incubado 14 dias não se detecta a existência da banda centrada a 1174 cm^{-1} , característica de assimetria de grupos $\nu(\text{C-O-C-})$ quando existe degradação severa dos materiais de base éster.

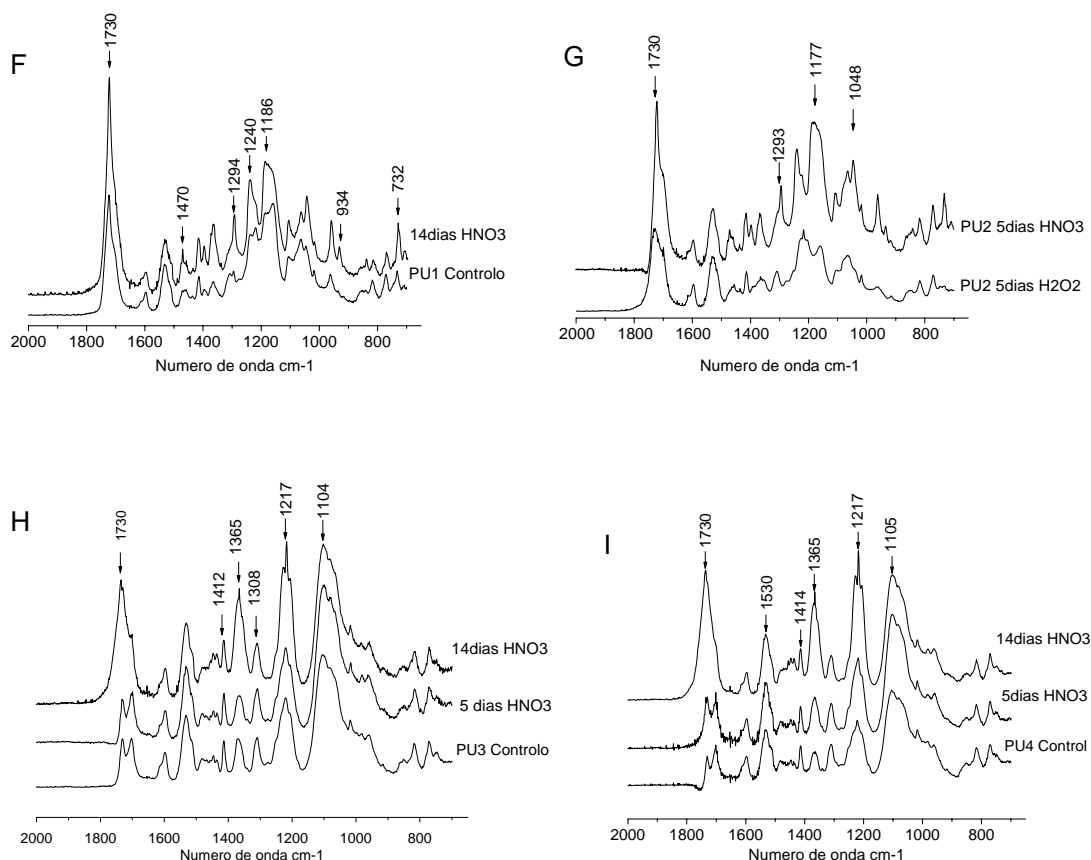
Analisando-se a Figura 3.5 (G) podem ser comparados os espectros relativos a PU2 sujeito a degradação em H_2O_2 e HNO_3 , para o mesmo tempo de ensaio. A região correspondente ao alongamento C=O , com dois picos distintos a 1730 e 1700 cm^{-1} , passou a existir sob a forma de um só pico com intensidade máxima a 1725 cm^{-1} , mais evidente quando se submete o material ao tratamento com HNO_3 . Pode estar a assistir-se à formação de um novo pico a 1716 cm^{-1} , correspondente à absorvância $\nu\text{ C=O}$ proveniente do aparecimento de grupos carboxílicos.

A alteração na banda 1733 cm^{-1} é muito idêntica à observada em PU1 apenas com 5 dias de tratamento. Este fenómeno indica aumento dos grupos C=O livres, com diminuição das ligações de hidrogénio. Como pode atribuir-se à rotura dos segmentos moles, com diminuição do tamanho dos mesmos, é legítimo assumir-se que o grau de degradação a este nível aumenta à medida que se diminui o teor em segmentos moles nos poli (éter-uretanos).

A Figura 3.5 (H) caracteriza a degradação de PU3 em ambiente ácido. Mesmo após 14 dias de ensaio não se detecta a banda 1174 cm^{-1} identificada por muitos autores como correspondente a degradação severa nestes materiais [12, 14, 19]. O aumento de intensidade na banda associada

ao carbonilo livre é mais pronunciado quando se submete o material em incubação com H_2O_2 (comparação a 5 dias de ensaio). Existem variações significativas ao nível das bandas relativas aos modos vibracionais CH_2 , com os picos centrados a 1365 e 1217 cm^{-1} a sofrerem alteração de intensidade.

PU4 [Figura 3.5 (I)] apresenta a mesma tendência revelada por PU3 no que respeita a alterações químicas. À semelhança do ocorrido quando se submeteu o material ao tratamento com H_2O_2 , só se verifica alterações ao nível da banda 1730 cm^{-1} , com uma pequena redução de intensidade, pelos motivos referidos anteriormente. Em relação ao polímero PU5 (J) não são detectáveis sinais de alterações químicas provocadas pelo ataque ácido, mesmo após 14 dias de incubação. É notória a elevada estabilidade química deste material, já revelada pela menor perda de massa, que sugere a sua eleição para futuros ensaios como matriz de suportes compósitos para implantes de longo termo.



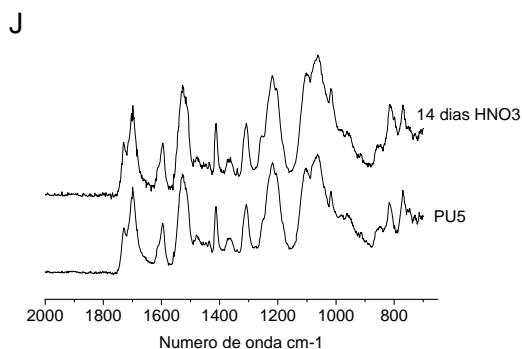


Figura 3.5. - Espectros de FTIR das amostras sujeitas a degradação acelerada em HNO_3 : Comparação entre o controlo e amostra PU1 incubada 14 dias (F); (G) PU2 incubado 5 dias em HNO_3 e H_2O_2 ; (H) PU3 incubado 5 e 14 dias; (I) PU4 incubado 5 e 14 dias; (J) PU5 comparação entre controlo e amostra incubada 14 dias.

A observação microscópica do polímero que apresentou maior estabilidade (PU5) revela que o material, inicialmente com uma superfície lisa e uniforme [Figura 3.6 (A, C)], após incubação em HNO_3 [Figura 3.6 (D)] apresenta na sua superfície pequenos poros ($\sim 5\mu\text{m}$ de diâmetro). Estes poros foram encontrados também no material tratado com H_2O_2 , embora de forma menos pronunciada [Figura 3.6 (B)]. O fenómeno é conhecido por cavitação (*pitting*) e tem sido descrito por alguns autores como resultado da extracção de produtos de degradação de menor peso molecular que resultam da cisão das cadeias [9]. Estas áreas localizadas de cisão abrem para a superfície em consequência da carga mecânica gerada no material; com o tempo pequenos poros $\varnothing=1\text{-}20\mu\text{m}$ podem coalescer em poros cada vez maiores, dando eventualmente lugar a fissuras [12].

Em suma, observa-se que o tratamento com ácido nítrico afecta de forma mais significativa a morfologia de superfície quando comparado com o mesmo material tratado com H_2O_2 .

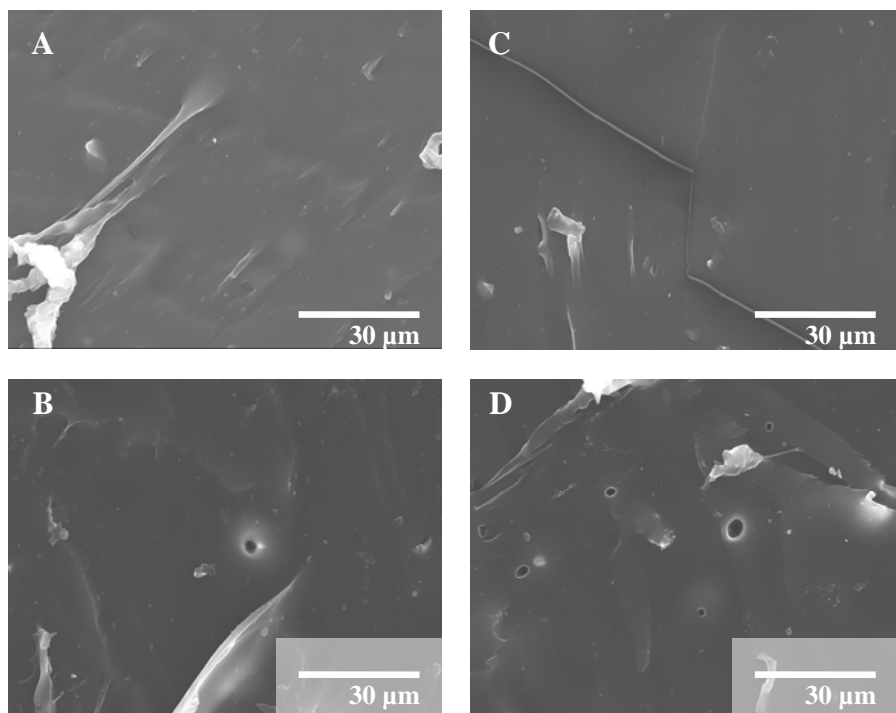


Figura 3.6. - Imagens de SEM da superfície de PU5 (1000x): (A,C) Polímero sem tratamento; (B) Tratamento com H_2O_2 durante 14 dias; (D) Tratamento com HNO_3 durante 14 dias.

A Figura 3.7 permite a observação detalhada da topografia da amostra PU5 sujeita a degradação em HNO_3 durante 14 dias. Ao analisar-se a topografia da amostra sem qualquer tratamento (A) pode identificar-se uma estrutura de cumes e vales, bem pronunciada. A imagem de fase revela uma superfície com uma microdureza local muito idêntica, possivelmente por se estar a lidar com um polímero de alta concentração em segmentos duros.

Por observação da topografia do material 14 dias após imersão em ácido (B), verifica-se uma diminuição da rugosidade, dando a ideia de um polimento ao nível microscópico. A imagem de fase revela uma superfície em que parecem existir pequenas bolhas eclodidas. Estes locais podem reflectir os pontos de ataque do ácido e fornecem uma ideia de como o material se vai degradando neste tipo de ambiente. Uma análise ao nível nanométrico pode encontrar-se por observação da Figura 3.7 (C), em que se distinguem pequenos locais de degradação preferencial ressaltando da superfície do material, com dureza aparente inferior à da restante matriz. Estas pequenas bolhas apresentam um diâmetro aproximado de 200 nm e podem significar a presença de pequenos domínios mais susceptíveis à degradação.

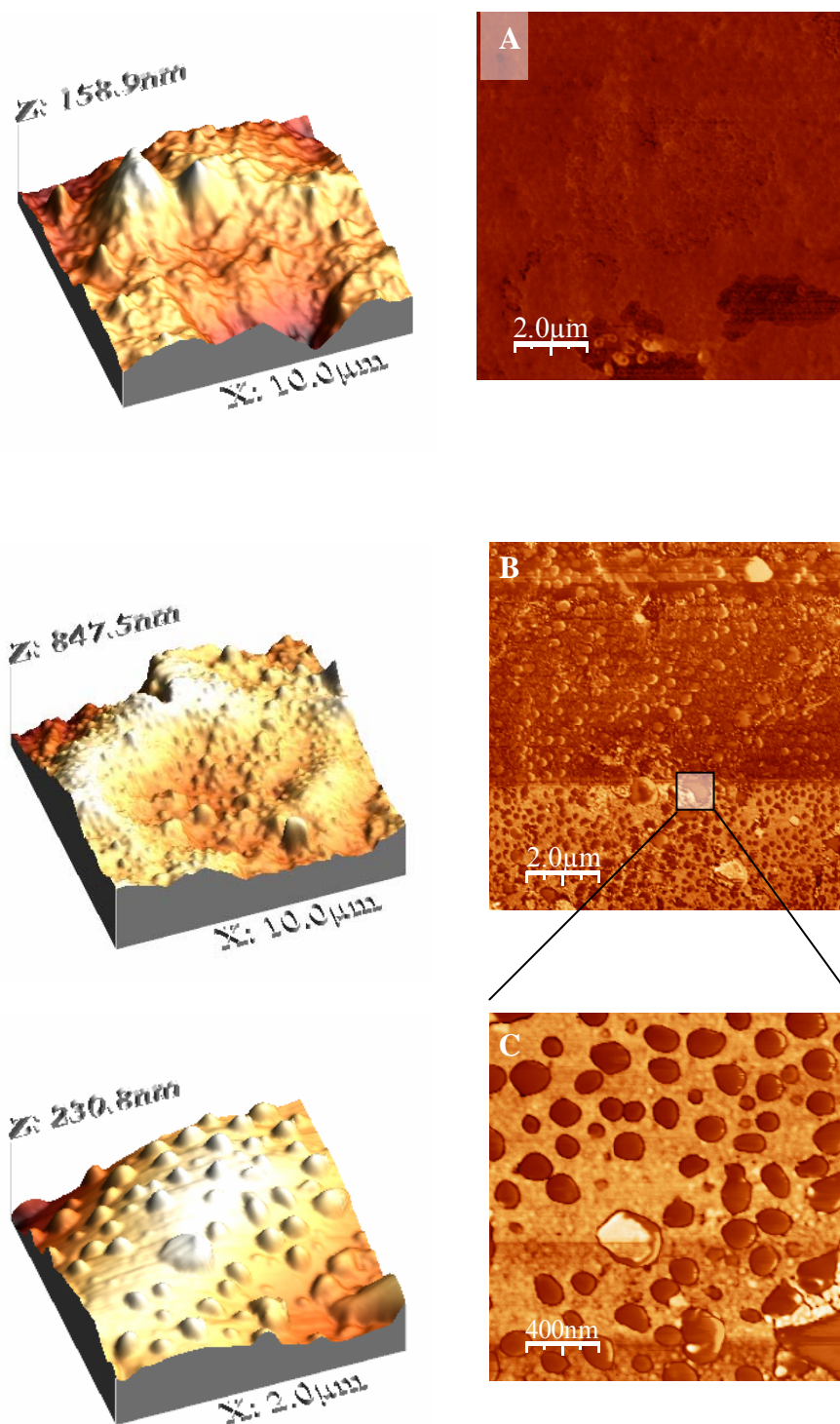


Figura 3.7. – Imagens AFM da topografia (esquerda) e de fase (direita) de PU5: (A) Sem tratamento; (B,C) Após 14 dias de tratamento com HNO_3 .

Em relação às alterações provocadas nas características térmicas de PU5, verifica-se, por observação da Figura 3.8, que ambos os tratamentos (ácido nítrico e peróxido de hidrogénio) provocaram alterações microestruturais. É detectável uma diminuição nos valores de T_g , no sentido (a) > (b) > (c). À semelhança do reportado por anteriores estudos [14], está a assistir-se a

um aumento de separação de fases quando o material é tratado com H_2O_2 tal como, e com maior evidência, quando é submetido a HNO_3 . As transições associadas a interações entre segmentos (30-60 °C) revelaram-se praticamente imperceptíveis, verificando-se igualmente um decréscimo nas temperaturas correspondentes a transições associadas aos segmentos duros. A explicação para o aparecimento de uma pequena transição detectada na curva (c) por volta de 180°C pode ser o desenvolvimento de micro-domínios ricos em segmentos duros, [20], que terão sofrido algum grau de cristalização induzido pela degradação em ambos os meios, mas de forma mais evidente quando o material é sujeito a meio ácido.

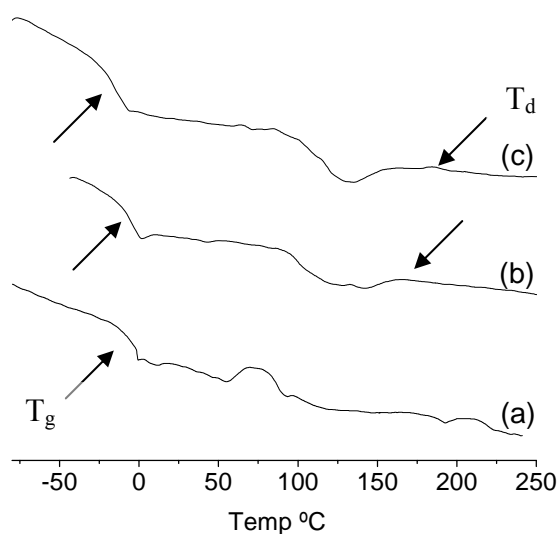


Figura 3.8. – Termogramas DSC de PU5: (a) Controlo e (b) PU5 sujeito a degradação em H_2O_2 durante 14 dias; (c) PU5 sujeito a degradação em HNO_3 durante 14 dias. Taxa de aquecimento 10 °C/min.

3.5. Conclusões

As condições utilizadas no método de degradação *in vitro* proposto tiveram por objectivo simular condições de ataque severo por parte do organismo, em que o processo inflamatório desce o pH local e ataca os corpos estranhos com enzimas e células por intermédio da libertação de peróxidos.

A hipótese de o aumento de bioestabilidade dos PU's envolver a inibição de radicais livres produzidos durante o processo inflamatório por células aderentes levou à experimentação de um antioxidante, o BHA. A capacidade de deter a degradação foi identificada por análise dos

espectros de FTIR, mas foi, de certo modo, mascarada pela excessiva quantidade introduzida, que resultou em grande perda de peso, por dissolução, detectada nos ensaios de degradação.

A Figura 3.9 indica a relação entre a percentagem de segmentos duros dos materiais e a sua propensão à degradação. Quando se trata de poli (éster-uretanos), existe um aumento na perda de peso à medida que se aumenta o teor em segmentos moles, revelando-se o ataque ácido mais efectivo nestes materiais. A protecção da degradação é suportada pelo carácter hidrofóbico de PCL, como observado nos ensaios de absorção de água.

Nos poli (éter-uretanos) a tendência do aumento de perda de peso com o aumento do teor em segmentos moles verifica-se, embora de uma forma menos pronunciada. Como vem sendo referido, e ao contrário dos PU's de base poliéster, o ataque em peróxido de hidrogénio revela-se aqui mais efectivo que o ataque com HNO_3 .

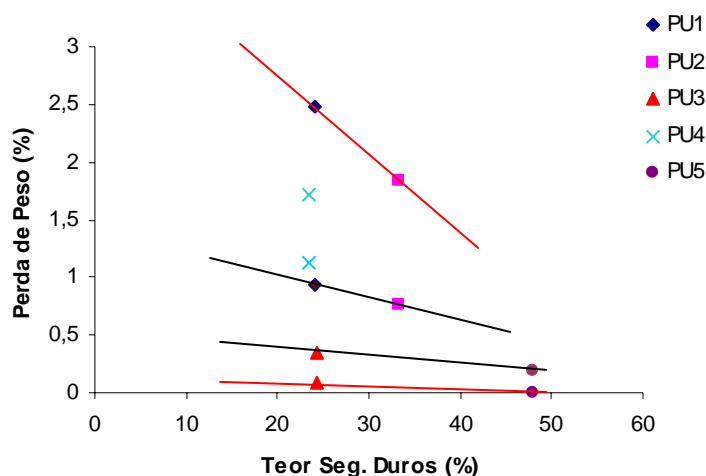


Figura 3.9. - Influência do teor em segmentos duros em poli éster-uretanos (PU1, PU2) e poli éter-uretanos (PU3,PU4, PU5) na perda de peso dos materiais sujeitos a degradação em H_2O_2 (—) e HNO_3 (—).

O PU5 revelou-se como o polímero com maior resistência à degradação, mas, embora sem consequências ao nível dos espectros de FTIR, é notório o ataque de superfície pelo HNO_3 detectado por microscopia de força atómica.

3.6. Referências Bibliográficas

1. Loren A. Matheson, R.S.L., J. Paul Santerre, *Biodegradation of polycarbonate-based polyurethanes by the human monocyte-derived macrophage and U937 cell systems*. Journal of Biomedical Materials Research, 2002. **61**: p. 505-513.
2. Gorna, K., Sylvester Gogolewski, *Biodegradable polyurethanes for implants. II. In vitro degradation and calcification of materials from poli (ε-caprolactone)-poly(ethylene oxide) diols and various chain extenders*. Journal of Biomedical Materials Research, 2002. **60**: p. 592-606.
3. Sheikh, N., *The effect of radiosterilization on cytotoxicity of polyurethane film*. Nuclear Instruments and Methods in Physics Research Section B: Beam Interactions with Materials and Atoms, 2003. **208**: p. 215-219.
4. I. Rehman, E.H.A., R. Smith, *In vitro degradation of poly(ester-urethanes) for biomedical applications*. Journal of Materials Science: Materials in Medicine, 1996. **7**: p. 17-20.
5. B. Saad, T.D.H., M. Welti, G. K. Uhlschmid, P. Neuenschwander, U. W. Suter, *Development of degradable polyesterurethanes for medical applications: In vitro and in vivo evaluations*. Journal of Biomedical Materials Research, 1997. **36**: p. 65-74.
6. Anka N. Veleva, S.A.K., Stuart L. Cooper, *Oxidative and hydrolytic stability of a novel acrylic terpolymer for biomedical applications*. Journal of Biomedical Materials Research, 2005. **74A**: p. 117-123.
7. Schollenberger, C.S., Stewart, F. D., J Elastoplast, 1971. **3**(28).
8. J. Y. Zhang, E.J.B., Nicholas P. Piesto, Sugha Agarwal, *A new peptide-based urethane polymer : synthesis. Biodegradation, and potential to support cell growth in vitro*. Biomaterials, 2000. **21**: p. 1247-1258.
9. Elizabeth M. Christenson, J.M.A., Anne Hiltner, *Oxidative mechanisms of poly(carbonate urethane) and Poly(ether urethane) biodegradation: In vivo and in vitro correlations*. Journal of Biomedical Materials Research, 2004. **70A**: p. 245-255.

10. Labow RS, M.E., Matheson LA, Santerre JP, *Human macrophage-mediated biodegradation of polyurethanes: assessment of candidate enzyme activities*. Biomaterials 2002. **23**(19): p. 3969-3975.
11. Elizabeth M. Christenson, M.J.W., James M. Anderson, Anne Hiltner, *Surface modification of poly(ether urethane urea) with modified dehydroepiandrosterone for improved in vivo biostability*. Journal of Biomedical Materials Research 2005. **73A**: p. 108-115.
12. Mark A. Schubert, M.J.W., James M. Anderson, Anne Hiltner, *Role of oxygen in biodegradation of poly(etherurethaneurea) elastomers*. Journal of Biomedical Materials Research, 1997. **34**: p. 519-530.
13. B. J. M. Pol, P.B.v.W., M. J. A. van Luyn, L. van der Does, A. Bantjes, *In vivo testing of crosslinked polyethers. I. Tissue reactions and biodegradation*. Journal of Biomedical Materials Research, 1996. **32**: p. 307-320.
14. Silvia Fare, P.P., A. Motta, A. Cigada, M Crsitina Tanzi, *Synergistic effects of oxidative environments and mechanical stress on vitro stability of polyetherurethanes and polycarbonateurethanes*. Journal of Biomedical Materials Research, 1999. **45**: p. 62-74.
15. G. A. Skarja, K.A.W., *Structure-Property relationships of degradable polyurethane elastomers containing an amino acid-based chain extender*. Journal of Applied Polymer Science, 2000: p. 1522-1534.
16. Michael R. Salazar, S.L.T., Keneth E. Laintz, Russel T Pack, *Degradation of a Poly(ester urethane) Elastomer.I. Absorption and Diffusion of Water in EstaneT 5703 and Related Polymers*. Journal of Polymer Science Part B: Polymer Physics, 2002. **40**: p. 181-191.
17. Katarzyna Gorna, S.P., Sylvester Gogolewski, *Synthesis and Characterization of Biodegradable Poly(e-caprolactone urethane)s. I. Effect of the Polyol Molecular Weight, Catalyst, and Chain Extender on the Molecular and Physical Characteristics*. Journal of Polymer Science Part A: Polymer Chemistry, 2002. **40**: p. 146-170.
18. Katarzyna Gorna, S.G., *Preparation, degradation, and calcification of biodegradable polyurethane foams for bone graft substitutes*. Journal of Biomedical Materials Research, 2003. **67A**: p. 813-827.

19. Mike Ebert, B.W., James Anderson, Rick McVenes, Ken Stokes, *In vivo biostability of polyether polyurethanes with polyethylene oxide surface-modifying end groups; resistance to biologic oxidation and stress cracking*. Journal of Biomedical Materials Research, 2005. **75A**: p. 175-184.
20. Imran Khan, N.S., Eric Jones, Dudley S. Finch, Ruth Elizabeth Cameron, *Analysis and evaluation of a biomedical polycarbonate urethane tested in an in vitro study and an ovine arthroplasty model. Part I: materials selection and evaluation*. Biomaterials, 2005. **26**: p. 621-631.

Capítulo 4

Comportamento Reológico dos Materiais

4.1. Introdução

Neste capítulo realiza-se um estudo preliminar das propriedades reológicas dos materiais desenvolvidos ao longo desta investigação, uma vez que a resposta viscoelástica destes materiais pode geralmente ser correlacionada com as suas características estruturais.

A Reologia, criada por E. C. Bingham em 1928 como *ciência que se dedica ao estudo das deformações e do escoamento da matéria*, pode ajudar a compreender sob que condições os materiais compósitos utilizados podem ser extrudidos e/ou de que forma poderá este método de processamento influenciar ou alterar as suas propriedades físicas ou químicas. Para se conhecer os fundamentos desta ciência irá recorrer-se a algumas definições básicas no intuito de facilitar o entendimento dos resultados[1-3]. Na Tabela 1 é possível observar a ordem de grandeza das viscosidades de alguns materiais [4]

Tabela 4.1. - Viscosidades de alguns materiais comuns

Composição	Viscosidade, Pa.s	Consistência
Ar	10^{-5}	Gás
Água	10^{-3}	Fluido
Soluções polimérico	10^{-2}	Fluido
Azeite	10^{-1}	Líquido
Glicerina	10^0	Líquido
Plásticos	10^{12}	Semi-rígidos
Vidros	10^{21}	Rígidos

4.2. Comportamento viscoelástico de polímeros

Os polímeros apresentam um comportamento intermédio entre um sólido perfeito (corpo de Hooke) e um líquido ideal (fluido de Newton), ou seja, exibem comportamento viscoelástico. Em virtude deste carácter dual, as propriedades mecânicas a temperatura constante dependem do tempo e da velocidade de deformação.

Os materiais que seguem a lei de Hooke são designados por materiais lineares elásticos, sendo a constante de proporcionalidade uma propriedade do material, conhecida por módulo de Young (E):

$$\sigma = E\varepsilon \quad (4.1)$$

σ = tensão

ε = extensão

Para definir a componente viscosa, considere-se um fluido confinado entre duas placas, uma das quais fixa e outra em movimento, com velocidade constante. Caso o regime seja laminar e a sua velocidade de escoamento varie linearmente desde zero, junto à placa inferior, até V junto à placa superior (Figura 4.1), o estado de tensão (τ) em cada ponto do fluido é de corte puro, e a tensão relaciona-se com a taxa de extensão:

$$\tau = \eta \dot{\gamma} \quad (4.2)$$

Esta equação é a conhecida lei de Newton, sendo η a viscosidade tangencial ou viscosidade do fluido. Se η for uma característica do material (a temperatura constante), independente de γ e do tempo, o fluido é newtoniano.

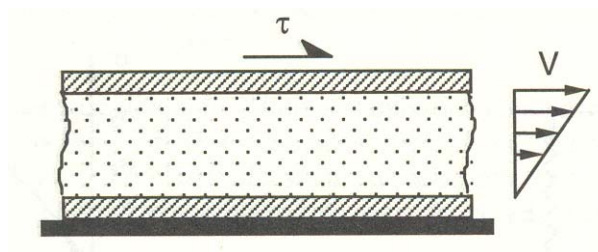


Figura 4.1. – Escoamento laminar tangencial.

Os polímeros exibem um comportamento reofluidificante, isto é, a viscosidade diminui com o aumento da taxa de deformação imposta ao sistema. Este comportamento é explicado com base

no conceito de entrelaçamento macromolecular e no progressivo rompimento e alinhamento das macromoléculas no sentido do escoamento, à medida que aumenta a taxa de extensão a que o material está sujeito. Em regime de baixas taxas de extensão, quando o inverso da taxa de deformação é superior ao tempo necessário para ocorrer o entrelaçamento macromolecular, a densidade média de entrelaçamento permanece constante, o que corresponde à zona newtoniana de viscosidade constante. A densidade de entrelaçamento macromolecular começa a diminuir para uma taxa de extensão crítica (γ_{cr}), acima da qual se verifica uma diminuição de viscosidade.

As cadeias tendem progressivamente a desentrelaçarem-se à medida que são sujeitas a corte ou tracção. Assim geram-se internamente tensões normais que vão provocar efeitos elásticos ou plásticos durante o escoamento. O comportamento viscoelástico pode ser definido por equações diferenciais lineares do tipo:

$$\sum_{i=1}^m a_i \tau^{(i)} = \sum_{j=1}^n b_j \gamma^{(j)} \quad (4.3)$$

Onde $\tau^{(i)}$ representa a derivada de ordem i da tensão e $\gamma^{(j)}$ a derivada de ordem j da extensão, em ordem ao tempo. Esta lei generaliza o modelo proposto por Burgers [1].

4.3. Medição das características reológicas

As propriedades viscoelásticas podem ser caracterizadas através de métodos dinâmicos a baixa amplitude de deformação (ensaios reológicos em regime oscilatório) que são particularmente úteis para a avaliação da organização macromolecular, incluindo aspectos conformacionais e interacções moleculares.

4.3.1. Reómetros de corte

Estes equipamentos permitem a medição de propriedades no âmbito do comportamento viscoelástico, entre as quais o módulo de relaxação $G(t)$ e o módulo complexo $G^*(t)$ e respectivas componentes real (G') e imaginária (G''):

$$G(t) = \frac{\sigma(t)}{\varepsilon} \quad (4.4)$$

$$G^*(t) = \frac{\sigma(t)}{\varepsilon(t)} \quad (4.5)$$

O equipamento utilizado neste estudo é o reômetro de pratos paralelos (Figura 4.2), que impõe um movimento relativo a duas superfícies entre as quais amostra é deformada. Esta geometria, proposta por Mooney, é bastante utilizada na caracterização de materiais muito viscosos.

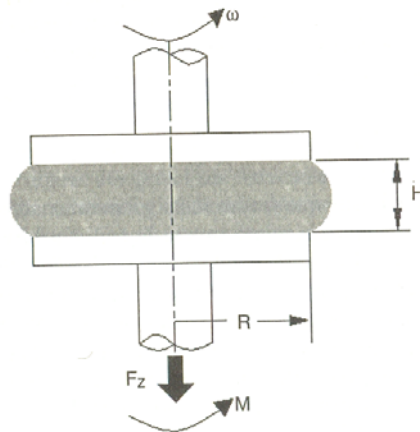


Figura 4.2. - Reômetro de pratos paralelos.

4.3.2. Medições dinâmicas

O reômetro de pratos paralelos permite induzir uma deformação oscilatória na amostra, geralmente de natureza sinusoidal. Este tipo de análise (dinâmica) permite a medição do módulo complexo (G^*) e suas componentes de interesse para o estudo; (i) o módulo de conservação (ou módulo elástico, G'), o qual se relaciona com a energia armazenada em cada ciclo de sollicitação da amostra; (ii) o módulo de perda (ou módulo dissipativo G''), o qual se relaciona com a energia dissipada, representando a parte viscosa da resposta, as viscosidades complexa (η^*) e dinâmica (η') [5].

4.4. Extrusão

A extrusão consiste na operação de forçar o material fundido a atravessar uma secção transversal específica. Esta secção pode ser aquecida a temperaturas pré definidas. O fundido passa através de uma fiação a taxas constantes, permitindo a obtenção de produtos com elevadas percentagens de carga e alta homogeneidade.

O avanço do material está relacionado com a diferença de velocidades entre o parafuso e o cilindro, sendo que a pressão a jusante dificulta o movimento. A intensidade da mistura é dependente da complexidade dos perfis e velocidade do parafuso. Por fim, a eficácia de fusão é dependente da contribuição da condução de calor, proveniente do cilindro e da dissipação viscosa produzida pelo material já fundido, que aumenta a diferença de temperatura entre este e o material por fundir, aumentando desta forma a transferência de calor.

O débito de uma extrusora pode ser definido pela seguinte expressão:

$$Q = \frac{(4+n)HW\pi ND \cos \theta}{10} F_D - \frac{WH^3 \Delta P}{4(1+2n)\eta Z} F_P \quad (4.6)$$

N – velocidade de rotação do parafuso (r.p.m).

D – diâmetro do cilindro.

H, W – profundidade e largura do canal.

n – índice de lei-de-potência.

θ – ângulo de inclinação médio da hélice.

ΔP – diferença de pressões

F_D, F_P – factores de forma do parafuso.

O “ponto operativo” da extrusora, definido como a condição em que a máquina é capaz de fundir os sólidos com o débito pretendido, introduzir a mistura ao sistema e pressurizar o material de forma a assegurar o escoamento através da fiação é altamente dependente da temperatura. Ao aumentar-se a mesma, irá produzir-se uma diminuição de viscosidade do fundido, portanto, uma subida do ponto operativo ao longo da curva característica da extrusora. Desta forma observa-se um aumento de débito e uma queda de pressão de operação.

4.5. Procedimento experimental

As medições reológicas efectuadas no reómetro de pratos paralelos envolveram a preparação de pequenos discos de polímero de acordo com as seguintes etapas: (i) moagem das amostras a um diâmetro de partícula $\varnothing \leq 0,5$ mm, (ii) prensagem a quente do material, obtendo-se os provetes a partir do molde desejado e (iii) limpeza do material em excesso (rebarba) e posterior medição.

4.5.1. Preparação de provetes

Para cada disco foram necessários aproximadamente 0,85 g de amostra sob a forma de grânulos. Acondicionou-se o material num molde 19×10 cm e 1mm de espessura com três reentrâncias em forma de disco envolto em duas folhas de teflon, para facilitar a desmoldagem. O conjunto, por sua vez, foi confinado entre duas folhas metálicas (garantindo o paralelismo da pressurização) que se colocaram numa prensa com pratos aquecidos a cerca de 160° C.

Cada amostra foi submetida a um ciclo de prensagem composto por $6,37 \times 10^5$ Pa durante 1 minuto, abaixamento de pressão e nova compressão com $5,15 \times 10^6$ Pa durante 10 minutos.

Após o ciclo de prensagem a quente, arrefeceu-se o molde, extraiu-se os discos (1mm de espessura, $\varnothing = 25$ mm) e retirou-se o excesso de material com ajuda de uma lâmina.

Com o objectivo de avaliar as condições de pressão do punção ideais para o estudo reológico, efectuou-se um ensaio com cada amostra a frequência constante (1 Hz), obtendo-se o valor de 500 Pa como valor óptimo de ensaio à temperatura de 150°C.

4.6. Apresentação e Discussão de Resultados

A figura 4.3. representa as micrografias do compósito PU5 com 70% (m/m) de enchimento (HA). A observação microscópica das superfícies após extrusão, mostra que, as partículas se encontram perfeitamente dispersas, sem existência de aglomerados. Pode concluir-se que a extrusão permite o processamento desta classe de compósitos, com uma distribuição homogénea da HA na matriz polimérica. Pode também observar-se que existe um perfeito envolvimento da matriz sobre as partículas, isto é, não se verificam pontos em que a matriz não “molhou” por completo as partículas de enchimento. Esta característica pode dever-se às pressões de trabalho exercidas durante a extrusão.

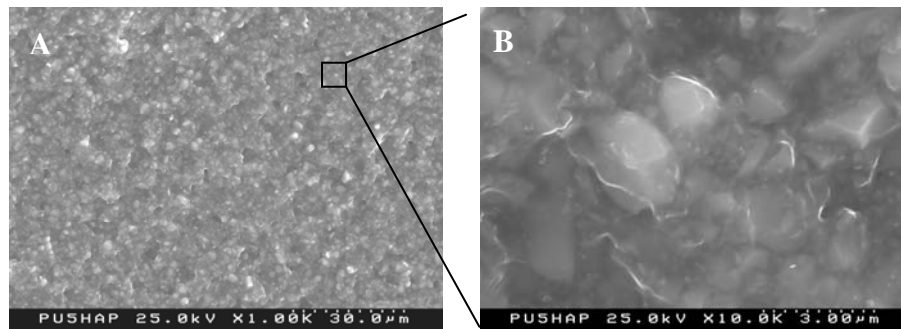


Figura 4.3. - Micrografias do compósito PU5 70% HA 1000x (A) e 10000x (B).

Na figura 4.4. estão representados os comportamentos reológicos em termos de viscosidade complexa (η^*) vs frequência, dos polímeros e seus compósitos com diferentes percentagens de carga., acompanhada da componente G' fundamental para a análise dos resultados. O valor de η^* apresenta um decréscimo notório com o aumento da frequência, característica da maioria dos polímeros. Os materiais revelaram valores de viscosidade complexa segundo a ordem;

$\eta^*_{PU3} > \eta^*_{PU1} > \eta^*_{PU5} > \eta^*_{PU4}$ (o mesmo se observa para G'). Em relação a PU4, é claramente observável uma diminuição da viscosidade intrínseca, em comparação com PU3. Esta evidência pode significar, como já vem sendo referido, um bloqueio do polímero por parte do BHA, prejudicando as ligações de curta distância entre cadeias e, desta forma, as propriedades mecânicas do material. O material antioxidante pode estar a exercer um efeito plastificante sob o polímero, efeito este que pode, eventualmente, ser atenuado com a introdução de uma menor quantidade de BHA.

Por observação de PU5 (material com maior percentagem de fase dura), verifica-se a existência de um módulo de conservação inferior aos de PU1 e PU3 [$G'(PU3) > G'(PU1) > G'(PU5)$]. Pode ser atribuído um comportamento elástico à fase macia e um comportamento mais plástico à fase dura. O estudo de superfície realizado em AFM revelou que este material apresentou grande quantidade de regiões mais claras indicativas de dureza superior em comparação com os restantes polímeros, que por se apresentar em maior concentração neste polímero, se irá repercutir precisamente nos valores de G'

Observa-se também um aumento da viscosidade na zona de frequências mais reduzidas para os materiais com base poliéter, em relação a polímeros com peso molecular idêntico, mas base poliéster ($\eta^*_{PU3} > \eta^*_{PU1}$). Esta diferença na viscosidade pode dever-se às diferenças de

viscosidade entre os polímeros utilizados: polímeros com viscosidade intrínsecas superiores poderão levar a que a viscosidade dos polímeros resultantes seja, consequentemente, superior. Outra contribuição pode resultar do grau de reacção dos polímeros com o isocianato: graus de reacção diferentes em polímeros com a mesma composição traduzir-se-ão em viscosidades intrínsecas distintas, dado que a viscosidade aumenta com o grau de reacção.

Pode observar-se um aumento da viscosidade à medida que se aumenta o tamanho de cadeia do poliálcool utilizado, ou seja, à medida que se aumenta o teor em segmentos moles (η^* PU3 > η^* PU5). Por observação do gráfico (figura 4.5) o efeito da introdução de 30% de enchimento nos polímeros causa uma redução na viscosidade complexa dos compósitos, especialmente na gama de frequências mais baixas e mais importante, um aumento da componente elástica.

Como é conhecido, as misturas compósitas podem exibir comportamentos reológicos anómalos, que podem ser atribuídos à existência de um determinado número de efeitos (por si só ou combinados) tais como: (i) efeito do deslizamento na parede durante medições reológicas conhecido por *wall-slip* [6, 7], (ii) rotação das partículas de enchimento, proposto por Mooney e Wolstenholme [8], denominado “fluxo supermolecular” envolvendo a rotação das partículas ou grupos de moléculas como corpos elásticos ou (iii) lubrificação local, que é o fluxo da matriz entre partículas de enchimento, com elevadas taxas de corte locais, reduzindo assim a viscosidade [9]. Estes efeitos tendem a ganhar maior expressão caso a interacção matriz-partícula seja reduzida, sendo este o caso.

Esta redução é mais pronunciada nos materiais com matrizes de tamanhos de cadeia superior (PU1 e PU3). Basicamente o módulo elástico G' reforça esta ideia com o compósito PU1 30%HA a revelar a maior perda de módulo elástico.

A viscosidade complexa continua a diminuir à medida que a frequência aumenta. Esta diminuição indica a estrutura tridimensional bem organizada dos materiais. Estes resultados são concordantes com os estudos de DSC, em que os materiais apresentaram maior grau de separação de fases à medida que se aumentou o tamanho de cadeia do poliálcool.

Considera-se os PU's como copolímeros (mistura de polímeros) devido à separação existente entre segmentos moles e duros. Esta separação, observável em capítulos anteriores, é revelada pela análise dos módulos de conservação G' na Figura 3.

A Figura 4.5 mostra a influência da percentagem de carga nas viscosidades complexas dos materiais. Quando se avalia o efeito da carga na viscosidade do compósito observa-se que para 30 e 50% de carga a viscosidade complexa diminui para baixas frequências de trabalho. Esta situação pode ser explicada pelo facto de as partículas de HA conferirem um efeito de “rolamento” ao sistema a baixas taxas de corte. Para altas taxas de corte, o efeito de orientação

das macromoléculas sobrepõe-se ao efeito lubrificante de HA, verificando-se esta inversão a cerca de 0,8 Hz. Neste sentido, pode-se considerar que se trata de uma composição de fácil processamento por extrusão.

Como a viscosidade diminui para percentagens de 30 e 50% m/m de HA (PU1), é possível admitir que não existe qualquer ligação química entre a carga e a matriz, uma vez que HA apresenta na sua constituição grupos hidroxilo (-OH) que facilmente reagiriam com grupos de isocianato livres. Neste sentido, verifica-se que a reacção entre os reagentes do PU se dá de forma muito efectiva.

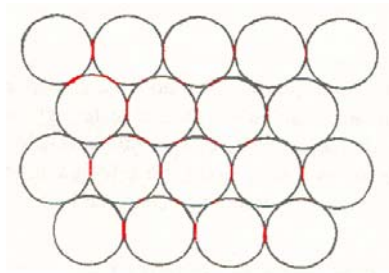


Figura 4.4. – Empacotamento 74% em volume (— zonas de atrito)

Quanto ao compósito PU5, verifica-se um decréscimo de viscosidade para baixas taxas de corte, à semelhança do ocorrido com PU1, pelos motivos referidos anteriormente. Quando a concentração de enchimento é aumentada de 50 para 70% m/m de HA, a resposta reológica altera-se drasticamente (figura 4.6). A percolação resultante gera um grau acrescido de fricção, levando a que a viscosidade aumente, medindo-se uma reacção tipo sólido, com elevados valores de η^* e G' . McGeary [10] mostrou experimentalmente que o empacotamento máximo (arranjo de uma rede finita de esferas por forma a ocuparem a maior fracção possível) para partículas esféricas de tamanho uniforme corresponde a uma densidade máxima entre 60 e 64 %, correspondendo a um empacotamento hexagonal (Figura 4.4). Por outras palavras, à medida que a HA aumenta, a mistura com uma concentração elevada em sólidos é progressivamente convertida numa rede de partículas sólidas com liquido apenas nos interstícios e no filme fino que envolve as superfícies.

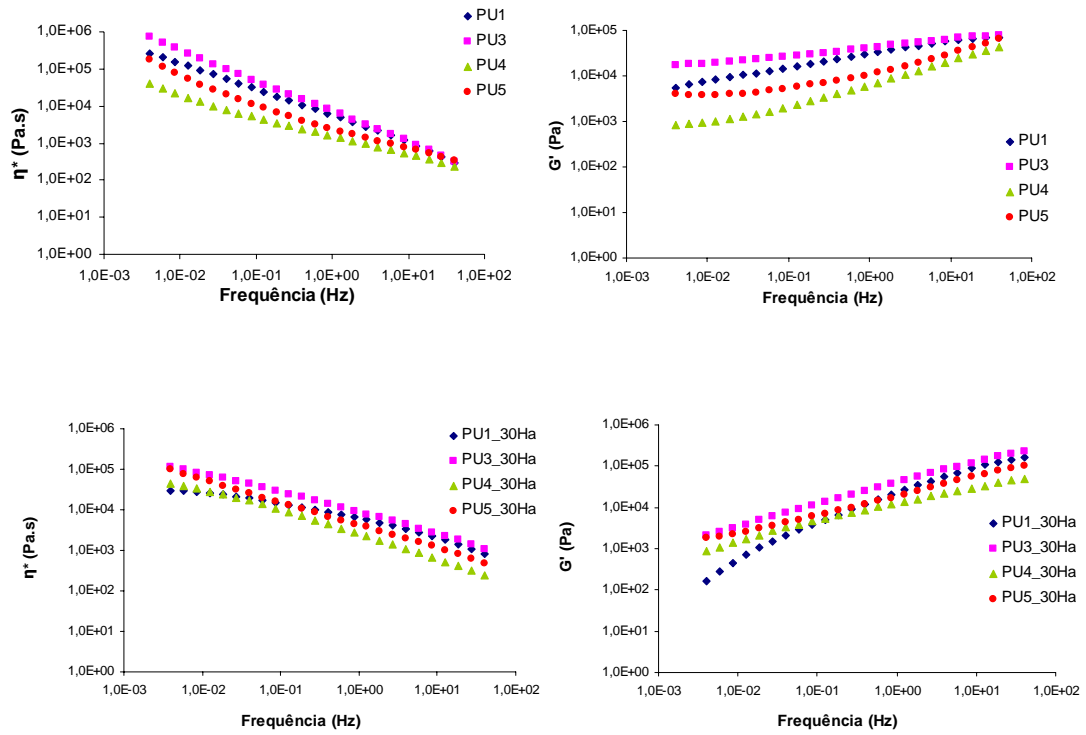


Figura 4.5. -Viscosidades complexas (η^*) e módulos de conservação (G') em função da frequência, para os diferentes polímeros sem carga e carregados (30% HA).

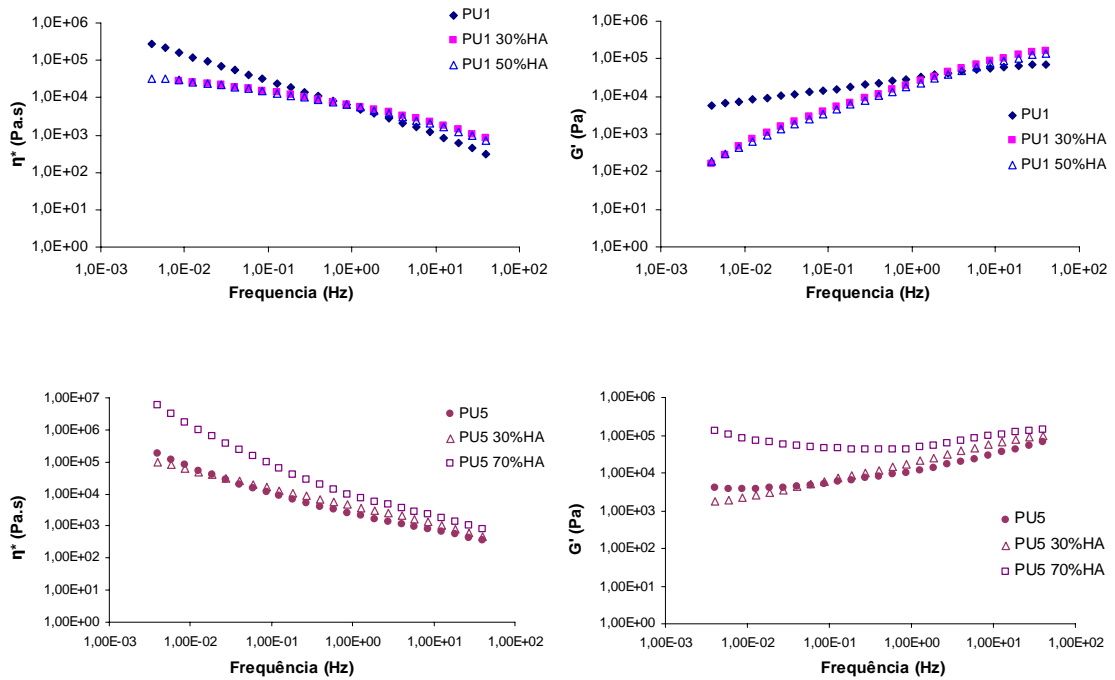


Figura 4.6. – Efeito do aumento da percentagem de carga na viscosidade complexa (η^*) e módulo de conservação (G'). PU1 (0; 30 e 50% HA) e PU5 (0; 30 e 70% HA).

4.7. Conclusão

O estudo do comportamento reológico das amostras revelou que os materiais que se apresentam com uma base polimérica proveniente de poliois com cadeia molecular superior apresentam viscosidades intrínsecas superiores.

Ao analisar-se os compósitos, observa-se um decréscimo na viscosidade em todos os materiais, em comparação com os polímeros de base, pela existência de um possível efeito lubrificante que as partículas de enchimento podem conferir ao referido material. Este efeito é observável até uma percentagem de carga de 50% m/m, aproximadamente. Conclui-se que materiais compósitos com percentagens de carga equivalentes às mencionadas se apresentam como facilmente processáveis por extrusão.

Percentagens de carga de 70% m/m, embora extrudíveis, oferecem elevada resistência à fluência, dificultando o seu processamento.

4.8. Referencias Bibliográficas

1. Alberto G. de Castro, A.C.D., José António Covas, *Reologia e suas aplicações industriais*. Ciência e Técnica-Instituto Piaget, 2001.
2. Macosko, C., *Rheology Principles, Measurements and Applications*. Wiley-VCH, 1994.
3. Malkin, A.Y., *Rheology Fundamentals*. ChemTec Publishing, 1994.
4. Sperling, L.H., *Introduction to Physical Polymer Science*. John Wiley & Sons, INC. , 2006. **Fouth Edition**.
5. J. Seixas de Melo, M.J.M., M. Helena Gil, H. D. Burrows, *Química de Polímeros*. Imprensa da Universidade de Coimbra, 2004.
6. Andrew G. Chryss, S.N.B.a.L.P., *Rheology of shear thickening suspensions and the effects of wall slip in torsional flow*. Rheologica Acta, 2005(45): p. 124.
7. MortonMDenn, *EXTRUSION INSTABILITIES AND WALL SLIP*. Annu. Rev. Fluid Mech., 2001. **33**(265): p. 87.
8. M Mooney, W.E.W., Journal of Appll Physics, 1958(25): p. 1098.
9. BERNARDO, C.A., VAN HATTUM, F.W.J., CARNEIRO, O.S. and MAIA, J.M., *The Role of Rheology in the Processing of Vapour Grown Carbon Fibre/Thermoplastic CompositesDordrecht*. NATO ASI Series: Carbon Filaments and Nanotubes: Common Origins, Differing Applications: Kluwer Academic Pub, 2001: p. 289-300.
10. McGeary, K., *Mechanical Packing of Spherical Particles*. J. Am. Ceram. Soc., 1961. **44**(10): p. 513-522.

Conclusões Gerais

Obtiveram-se compósitos PU/HA, partindo de matrizes de PU com diferentes bases químicas (éster e éter) com introdução da fase cerâmica na extrusão. Esta técnica permitiu a perfeita incorporação do enchimento na matriz, originando compósitos com alto grau de homogeneidade.

O estudo das características estruturais dos polímeros revelou alterações significativas, com a modificação do tamanho de cadeia e o tipo de poliol. Os espectros de infravermelho dos poliuretanos revelaram que, o aumento de tamanho de cadeia do poliol diminuiu a extensão de ligações de hidrogénio nos polímeros. Comparativamente, poliuretanos com tamanho de cadeia idêntico, apresentam mais ligações de hidrogénio se formados com base éter. Verificou-se também uma evolução nestas ligações com o tempo, traduzindo eventualmente um certo grau de mobilidade das cadeias.

A análise calorimétrica revelou uma estrutura de fases separadas, com algumas transições térmicas a evidenciar fusão de domínios duros e moles. O aumento de segmentos provocou um aumento nas Tg's, reflectindo mistura entre as fases.

Esta segregação de fases foi também detectada por AFM, onde, nos varrimentos com maior ampliação foi possível detectar zonas com tonalidades mais claras, agregadas em domínios. Estas podem ser indicativas da presença de segmentos duros, dispersos numa matriz constituída por segmentos moles.

A resistência dos PU's à degradação foi avaliada recorrendo a soluções altamente agressivas de H₂O e HNO₃.

Os poli (éter-uretanos) apresentaram maior estabilidade química. Todos os polímeros de base éster sofreram degradação mais acentuada em HNO₃. Constatou-se que o PU5 mostrou ser o material que sofreu menor perda de peso durante aos ensaios de degradação acelerada.

A introdução de BHA revelou um efeito plastificante nos polímeros. O efeito de protecção de degradação não foi claramente observado, pois a quantidade introduzida revelou-se exagerada, levando à segregação do material para a solução durante os ensaios.

A extrusão de compósitos PU/HA permitiu uma excelente homogeneização da fase mineral, observada em SEM, fornecendo aos materiais alta potencialidade a nível mecânico (orientação molecular) e interacção química (homogeneidade do compósito).

Verificou-se ainda que, os compósitos apresentam uma excelente resposta à extrusão, determinada pelo estudo das propriedades reológicas. A introdução de fase mineral beneficiou a extrusão até um máximo de 50% (m/m). Cargas superiores podem implicar grandes pressões de trabalho, com fricções geradas ao ponto de se alterar a integridade da matriz. O facto destes compósitos serem produzidos com PU e reforçados com HA leva a crer que, podem apresentar excelentes desempenhos quando solicitados mecanicamente. A estabilidade química, nomeadamente dos compósitos PU5/HA apontam estes materiais como bastante promissores em substituição do tecido ósseo.

Trabalho Futuro

A preparação de compósitos com introdução do enchimento através de composição na extrusão e o estudo das características destes materiais mostraram que, apesar de existir um grande potencial quanto ao seu uso em aplicações biomédicas, foram detectados alguns aspectos que necessitam de melhoramentos. Entre estes considera-se de maior relevância o estudo da introdução de antioxidante no polímero. O efeito plastificante observado pela introdução do antioxidante pode ser reduzido, estudando a quantidade óptima de adição e o seu efeito na protecção da degradação. A introdução de outros tipos de antioxidantes pode igualmente fornecer informações quanto à compatibilidade deste tipo de aditivos com os poliuretanos.

O completo estudo destes materiais necessita de informações importantes que podem reiterar a sua utilização como biomateriais sendo elas; avaliação das propriedades mecânicas e estudo da toxicidade recorrendo-se a ensaios celulares.

- **Propriedades Mecânicas:**

Este estudo necessitaria da produção de provetes com compósitos com diferentes percentagens de carga, a fim de se otimizar a quantidade de HA com o objectivo de se adquirirem propriedades mecânicas o mais aproximadas possível às do osso cortical.

Neste trabalho não se identificaram indicadores da ligação química entre a fase mineral e a matriz. Contudo, a modificação química da matriz com a introdução de determinados grupos funcionais, eventualmente grupos -NCO, que adequados à quantidade de HA adicionada, poderiam reagir com grupos OH da mesma, melhorando as propriedades mecânicas.

- Estudos de toxicidade:

Tendo em conta que existe sempre algum grau de degradação dos materiais, é fundamental avaliar em que medida os produtos libertados podem apresentar toxicidade. Para tal poderia levar-se a cabo um estudo de degradação, em que, os possíveis produtos de degradação fossem recolhidos e colocados em contacto com células avaliando-se assim a toxicidade resultante.